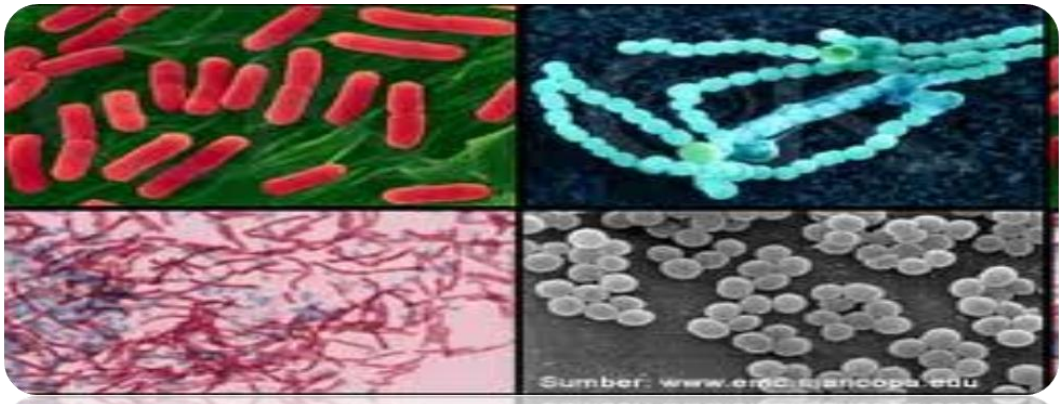
MODUL PRAKTIKUM

BAKTERIOLOGI 1



UNTUK KALANGAN SENDIRI

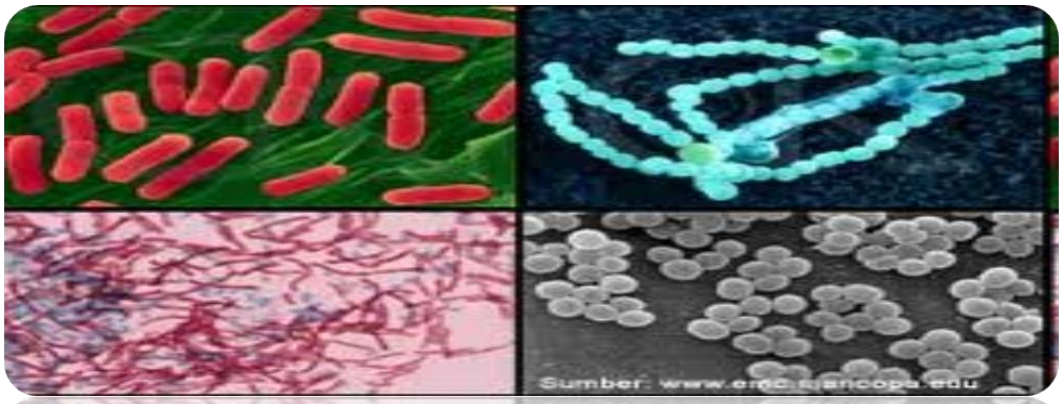
PENYUSUN :

TIM BAKTERIOLOGI 1

Laboratorium Mikrobiologi
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surabaya
2019

MODUL PRAKTIKUM

BAKTERIOLOGI 1



UNTUK KALANGAN SENDIRI

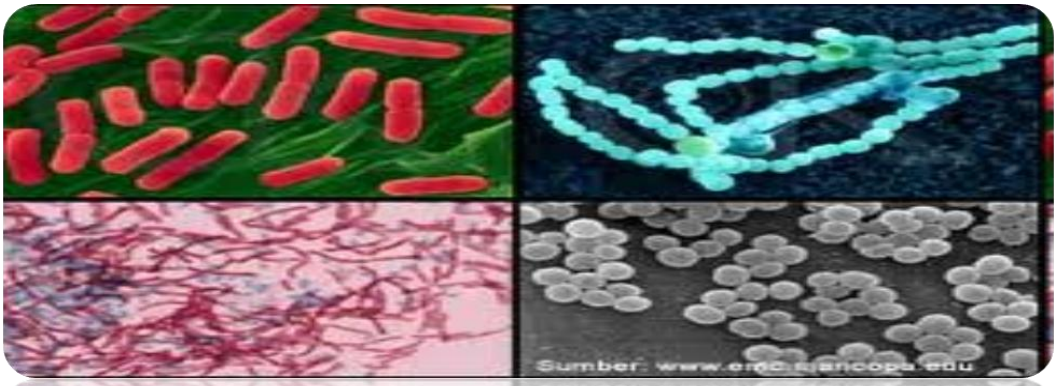
PENYUSUN :

TIM BAKTERIOLOGI 1

Laboratorium Mikrobiologi
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surabaya
2019

MODUL PRAKTIKUM

BAKTERIOLOGI 1



PENYUSUN :

1. Fitrotin Azizah (Ketua)
2. Dita Artanti (Anggota)
3. Yeti Eka Sispita Sari (Anggota)

Laboratorium Mikrobiologi
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surabaya
2019

VISI

Menjadikan Prodi D-3 Analis Kesehatan yang menghasilkan Ahli Madya Analis Kesehatan yang terampil dalam kompetensi Mikrobiologi medis dan kesehatan berlandaskan pada moralitas, intelektualitas dan berjiwa entrepreneur pada tahun 2021.

MISI

1) Menyelenggarakan pendidikan tinggi D3 Analis Kesehatan dan pembelajaran yang memiliki keterampilan di bidang mikrobiologi medis dan kesehatan serta berjiwa *entrepreneur*.
2) Menyelenggarakan penelitian dan publikasi di bidang Analis Kesehatan.
3) Menyelenggarakan pengabdian kepada masyarakat yang berbasis pada penelitian di bidang Analis Kesehatan.
4) Berperan dalam menyelenggarakan pembinaan dan pengembangan civitas akademika yang dapat menjadi teladan serta berprinsip pada nilai Al Islam dan Kemuhammadiyahan melalui dakwah Islam dengan menegakkan amar makruf nahi munkar.
5) Menyelenggarakan pengelolaan program studi yang terencana, terorganisasi, produktif dan berkelanjutan.

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
Program Studi : Keperawatan S1 dan D3 - Analis Kesehatan D3 - Kebidanan D3
Jln. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113, Telp. (031) 3811966 - 3890175 Fax. (031) 3811967

K E P U T U S A N D E K A N

Nomor: 332.4/KEP/II.3.AU/F/FIK/2019

TENTANG

PEDOMAN PRAKTIKUM BAKTERIOLOGI 1
PROGRAM STUDI D3 TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FIK UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA
Semester Genap Tahun Akademik 2018-2019

Bismillahirrahmanirrahim,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya, setelah:

Menimbang :
a. Bahwa guna peningkatan kualitas pembelajaran dan pencapaian kompetensi praktek mahasiswa D3 Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan dipandang perlu adanya pedoman praktikum BAKTERIOLOGI 1.
b. Bahwa pedoman modul praktikum tersebut pada butir a sebagai pedoman atau acuan selama proses belajar mengajar dan pencapaian kompetensi praktek dasar.
c. Bahwa pedoman praktikum sebagaimana dimaksud dalam butir a dan b perlu ditetapkan dengan surat keputusan.

Mengingat :
1. UU RI Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional.
2. UU RI Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi.
3. Peraturan Pemerintah Nomor 60 Tahun 1999 tentang Pendidikan Tinggi.
4. Pedoman PP Muhammadiyah Nomor: 02/PED/I.0/B/2012 tentang Perguruan Tinggi Muhammadiyah.
5. Ketentuan Majelis Dikti PP Muhammadiyah Nomor: 178/KET/I.3/D/2012 tentang Perguruan Tinggi Muhammadiyah.
6. Statuta Universitas Muhammadiyah Surabaya.

MEMUTUSKAN :

Menetapkan :

Pertama : Berlakunya **Pedoman Praktikum BAKTERIOLOGI 1** Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya sebagaimana tersebut dalam lampiran keputusan ini.

Kedua : Pedoman Praktikum BAKTERIOLOGI 1 yang tersebut dalam diktum pertama keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan dan merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari keputusan ini.

Ketiga : Apabila di kemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam keputusan ini akan dibetulkan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di : Surabaya
Pada tanggal : 28 Februari 2019
Dekan,

Dr. Mundakir, S.Kep.Ns., M.Kep

Tembusan Yth. :
1. Para Kaprodi
2. Ka. BAA dan BAK
3. Yang bersangkutan

KATA PENGANTAR

Edisi revisi

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat اللهrobbul ‘alamiin berkat limpahan rahmat dan hidayah-NYA, **Petunjuk Praktikum Bakteriologi 1** ini dapat diselesaikan sebagai bahan acuan dalam pelaksanaan mata kuliah praktikum Bakteriologi I di lingkungan Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medis FIK UMSurabaya.

Ungkapan terima kasih yang mendalam kami sampaikan kepada berbagai pihak yang telah membantu memberikan gagasan dan saran dalam penyusunan modul praktikum ini.

Dengan disusunnya modul praktikum ini diharapkan dapat membantu mahasiswa untuk memahami mata kuliah praktek Bakteriologi I, dan sebagai salah satu upaya peningkatan kemampuan dan keterampilan di bidang mikrobiologi sebagaimana yang diharapkan oleh kurikulum kesehatan dan tuntutan kebutuhan pelayanan kesehatan.

Akhirnya diharapkan buku ini dapat dimanfaatkan secara optimal oleh mahasiswa pada khususnya, dan para peserta didik dilingkungan Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medis FIK UMSurabaya.

Untuk penyempurnaan penyusunan selanjutnya, kami sangat mengharapkan kritik dan saran dari berbagai pihak yang berkompeten dalam bidang ini.

Surabaya, Februari 2019

Penyusun

RENCANA PEMBELAJARAN SEMESTER (RPS)

A. IDENTITAS

Nama Program Studi	DIII Analis Kesehatan	Tgl. Direvisi: 29 Januari 2019
Nama Mata Kuliah	Praktek Bakteriologi I	Kode/Bobot MK: **17WP05227/1 SKS**
Semester	2 (Dua)	
Dosen Pengampu	1. Fitrotin Azizah, S.ST., M.Si. 2. Dita Artanti, S.Si. M.Si 3. Yeti Eka Sispita S., S.Si.,M.Si.	

B. CAPAIAN PEMBELAJARAN LULUSAN

No	Capaian Pembelajaran Lulusan (CPL) Program Studi	Capaian Pembelajaran Mata Kuliah (CPMK)
1	(S9)menunjukkan sikap bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri (A2);	Mahasiswa mampu memahami (C2), menguasai (C2) konsep pengendalian mutu laboratorium medik dan kesehatan secara internal, aspek-aspek penting proses pemeriksaan, pengelolaan dan keselamatan kerja/belajar di laboratorium medik dan kesehatan serta melakukan (C3) pemeriksaan dan tindakan pencegahan terjadinya kesalahan proses pemeriksaan dibidang bakteriologi 1 mulai tahap pra analitik,analitik dan pasca analitik,analitik dan pasca analitik
2	(KK2) Mampu melakukan pemeriksaan laboratorium medis mulai tahap pra analitik, analitik sampai pasca analitik di bidang bakteriologi (C3) pada sampel darah, cairan dan jaringan tubuh manusia menggunakan instrumen sederhana dan digital (Literasi Teknologi) (P3) secara terampil sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (A2).	

3	(KK5)Mampu melakukan tindakan pencegahan terjadinya kesalahan pada pemeriksaan bakteriologi meliputi tahap pra analitik, analitik, dan pasca analitik (C3) melalui konfirmasi kesesuaian proses dengan standar untuk mencapai hasil pemeriksaan yang berkualitas (A3,P3).	(P3) secara terampil, bertanggungjawab sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (A3).
4.	(KK9) Mampu mengumpulkan dan mengolah data secara deskriptif (C3) pada penelitian dasar dan terapan di bidang kesehatan khususnya pada laboratorium medik (P3) .	
5.	(P3) Menguasai konsep pengendalian mutu laboratorium medik dan kesehatan secara internal, aspek-aspek penting proses pemeriksaan, serta mengidentifikasi terjadinya kesalahan proses pemeriksaan dengan memanfaatkan kemampuan literasi data (C3,P3)	
6	(P7) Menguasai prinsip-prinsip dan teori-teori pengelolaan dan keselamatan kerja/belajar di laboratorium medik dan kesehatan (C3)	

C. KOMPETENSI MATA KULIAH

Capaian Pembelajaran Mata Kuliah (CPMK)	Mahasiswa mampu melakukan pewarnaan dalam identifikasi bakteri	
Kemampuan Akhir yang diharapkan (KA)/ Kompetensi Dasar Mata Kuliah	NO. KA	**Rumusan KA**
	1.	Melakukan Pembuatan Preparat/Sediaan
	2.	Melakukan Pewarnaan Sederhana
	3.	Melakukan Pewarnaan Gram
	4.	Melakukan Pewarnaan ZN (Ziehl – Nielsen)
	5.	Melakukan Pewarnaan Kinyoun Gabbet
	6.	Melakukan Pewarnaan Schaffer fulton
	7.	Melakukan Pewarnaan Klein
	8.	Melakukan Pewarnaan Kapsul
	9.	Melakukan Pemeriksaan Angka Lempeng Total
	10.	Melakukan Pemeriksaan Most Probable Number
Deskripsi MK	**:** Mata kuliah ini membahas tentang teknik pewarnaan dalam pemeriksaan bakteri serta perhitungan jumlah bakteri secara kuantitatif dan kualitatif.	
Sistem Pembelajaran a. Bentuk Pembelajaran b. Metode Pembelajaran	 : Praktikum lab : *Small Group Discussion, Self Directed Learning* dan penugasan	

Media Pembelajaran	: Power Point, Video	
Penilaian	• Tugas	: 30%
	• UTS	: 20%
	• Aktivitas/Partisipasi	: 20%
	• UAS	: 30%
	NILAI AKHIR = (3 TUG + 2 UTS + 2 AK + 3 UAS) : 10	
PUSTAKA	Utama/Wajib:	
	1. Jawetz, E., Melnic, Adelberg's.2013. *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi 20. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran (EGC). Hal.608 – 637	
	2. Kuswiyanto. 2014. Buku Ajar Bakteriologi 1 Analis kesehatan. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran (EGC). 3. Kuswiyanto. 2014. Buku Ajar Bakteriologi 2 Analis kesehatan. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran (EGC) 4. Kuswiyanto. 2014. Buku Ajar Bakteriologi 3 Analis kesehatan. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran (EGC)	
	5. Bulele, T., Fredine E.S.Rares, dan John Porotu'o.2019. "Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram Pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado". *Jurnal e-Biomedik (eBm).* Vol 7, No.1.Hal.31-34	
	6. Muthiah, H., Warta Dewi, dan Indarti Sudjarwo. 2017."Pemanfaatan Ekstrak	

	Etil Asetat Buah Merah Sebagai Zat Warna Primer Pada Teknik Pengecatan Negatif Kapsul Bakteri". *J.Ked Gi Unpad*. 29(1); 35-40
	7. Puspandari, Nelly dan Ani Isnawati. 2015.Deskripsi Hasil Uji Angka Lempeng Total (ALT) Pada Beberapa Susu Formula Bayi. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol.5, No.2. Hal.106-112
	8. Mursalim. 2018. Pemeriksaan Angka Lempeng Total Bakteri Pada Minuman Sari Kedelai Yang Diperjualbelikan Di Kecamatan Manggala Makassar. *Jurnal Media Analis Kesehatan*. Vol.1, Ed.1, Hal.56-61
	9. Askrening, Reni Yunus.2017.Analisis Bakteri Coliform Pada Air Minum Isi Ulang di Wilayah Poasia Kota Kendari. *Jurnal Teknologi Kesehatan*. Vol.13, No.2, Hal.71-76
	10. Putri, Aprilia M. dan Pramudya Kurnia. 2018. Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform dan Total Mikroba dalam Es Dung-dung di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Media Gizi Indonesia*. Vol.13, No.1, Hal. 41-48
	11. Mursalim, Siti Hadijah, Hasnawati. 2018. Analisis MPN (*Most Probable Number*) Coliform Pada Es Puter yang Beredar di Kabupaten Gowa dan Makassar. *Jurnal Media Analis Kesehatan*. Vol.9, No.2, Hal. 123-129

D. RINCIAN RENCANA PEMBELAJARAN SEMESTER

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Mahasiswa Mampu Melakukan Pembuatan Preparat/ Sediaan secara terampil, bertanggungjawab sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (C3,A2,P3)	1.1. Menjelaskan melakukan teknik aseptic dengan objek glass 1.2. Menjelaskan Melakukan pemijaran ose 1.3. Menjelaskan Melakuakn perata	Pengertian teknik aseptic, pemijaran ose, perataan sampel bakteri, melakukan fiksasi dalam pembuatan preparat/sediaan	Bentuk: Praktikum Metode: *Small Group Discussion, Self directed Learning*, dan Penugasan : • Menyusun laporan sementara hasil praktikum	Non Tes	• Ketepatan melakukan teknik aseptic dengan objek glass • Ketepatan Melakukan pemijaran ose • Ketepatan Melakuakn perataan sampel	10%	1 X 170’	1,2,3

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		an sampel bakteri pada objek glass dengan ukuran 2x2 cm 1.4. Menjelaskan Melakukan fiksasi di atas api spirtus				bakteri pada objek glass dengan ukuran 2x2 cm • Ketepatan Melakukan fiksasi di atas api spirtus			
2	Mahasiswa mampu Melakukan Pewarnaan sederhana secara terampil,	2.1. Menjelaskan melakukan pembuat	Pengertian pewarnaan sederhana, pembuatan preparat,	• skill lab	Non Tes	Pengertian pewarnaan sederhan	8%	1 X 170’	1, 2,3

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	bertanggungjawab sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (C3,A2,P3)	an reagen pewarnaan sederhana 2.2. Menjelaskan melakukan pembuatan preparat/ sediaan 2.3. Menjelaskan melakukan penetesan Kristal violet/ Gentian violet	penetesan Kristal violet/gentian violet, penetesan safranin, penetesan metilen biru, pengamatan menggunakan mikroskop, dan pembacaan hasil pewarnaan			a, pembuatan preparat, penetesan Kristal violet/gentian violet, penetesan safranin, penetesan metilen biru, pengamatan menggunakan mikroskop, dan pembacaan hasil			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		2.4. Menjelaskan melakukan penetesan pewarna safranin/ Air fuchsin 2.5. Menjelaskan melakukan penetesan pewarna metilen biru 2.6. Menjelaskan dalam melakukan				pewarnaan •			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		pengamatan menggunakan mikroskop 2.7. Menjelaskan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan							
3	Mahasiswa mampu Melakukan Pewarnaan Gram secara terampil, bertanggungjawab sesuai standar	1.1. Menjelaskan melakukan pembuatan reagen pewarna	Pengertian pewarnaan Gram, pembuatan preparat, penetesan Kristal violet/gentian	• skill lab	Non Tes	• Ketepatan melakukan pembuatan reagen pewarna	10%	1 X 170’	5

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (C3,A2,P3)	an Gram 1.2. Menjelaskan melakukan pembuatan preparat/ sediaan 1.3. Menjelaskan melakukan penetesan pewarna Kristal violet 1.4. Menjelaskan melakukan penetesan reagen	violet, penetesan reagen lugol, penetesan alcohol 96%, penetesan pewarna safranin/air fuchsin, pengamatan menggunakan mikroskop, dan pembacaan hasil pewarnaan			an Gram • Ketepatan melakukan pembuatan preparat /sediaan • Ketepatan melakukan penetesan pewarna Kristal violet • Ketepatan melakukan penetesan reagen			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		lugol 1.5. Menjelaskan melakukan penetesan alkohol 96% 1.6. Menjelaskan melakukan penetesan dengan pewarna safranin/ air fuchsin 1.7. Menjelaskan dalam melakuk				lugol • Ketepatan melakukan penetesan alkohol 96% • Ketepatan melakukan penetesan dengan pewarna safranin/ air fuchsin 1.9. Ketepatan dalam melak			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		an pengamatan menggunakan mikroskop 1.8. Menjelaskan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan				ukan pengamatan menggunakan mikroskop Ketepatan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan			
4	Mahasiswa mampu Melakukan Pewarnaan ZN (Ziehl – Nielsen) secara terampil, bertanggungjawab sesuai	• Menjelaskan melakukan pembuatan reagen pewarna	Pengertian pembuatan preparat dari sputum/dahak, penetesan Carbol fuchsin, pembakaran	• Skill lab	Non tes	• Ketepatan melakukan pembuatan reagen pewarn	10	1 x 170’	1, 2, 3, 4

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (C3,A2,P3)	an ZN • Ketepatanmelakukan pembuatan preparat/ sediaan dari sputum • Menjelaskan melakukan penetesan pewarna Carbol Fuchsin • Menjelaskan melakukan pembak	preparat di atas api,penetesan dengan asam alcohol, penetesan metilen biru, pengamatan menggunakan mikroskop, dan pembacaan hasil pewarnaan			aan ZN • Ketepatanmelakukan pembuatan preparat/sediaan dari sputu • Ketepatan melakukan penetesan pewarna Carbol Fuchsin • Ketepatan melaku			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		aran pada preparat dengan api • Menjelaskan melakukan penetesan asam alkohol • Menjelaskan melakukan penetesan pewarna metilen biru • Menjelaskan dalam				kan pembakaran pada preparat dengan api • Ketepatan melakukan penetesan asam alcohol • Ketepatan melakukan penetesan pewarna			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		melakukan pengamatan menggunakan mikroskop • Menjelaskan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan				metilen biru • Ketepatan dalam melakukan pengamatan menggunakan mikroskop • Ketepatan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan			
5	Mahasiswa	5.1. Menjela	Pengertian	• Skill Lab	Non	• Ketepat	10	1 x 170’	1,2,3,4

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	mampu Melakukan Pewarnaan Kinyoun Gabbet secara terampil, bertanggungjawab sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (C3,A2,P3)	skan melakukan pembuatan reagen pewarnaan kinyoun -Gabbet 5.2. Menjelaskan melakukan pembuatan preparat/ sediaan dari sputum 5.3. Menjelaskan melakukan	pewarnaan Kinyoun Gabbet, pembuatan preparat dari sputum/dahak, penetesan pewarna kinyoun, pembilasan sisa pewarna,penetesan dengan pewarna Gabbet, pengamatan menggunakan mikroskop, dan pembacaan hasil pewarnaan		Tes	an melakukan pembuatan reagen pewarnaan kinyoun-Gabbet • Ketepatanmelakukan pembuatan preparat/sediaan dari sputum • Ketepatan melakukan			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		penetesan pewarna Kinyoun 5.4. Menjelaskan melakukan pembilasan pewarna 5.5. Menjelaskan melakukan penetesan pewarna Gabbet 5.6. Ketepatan dalam melakukan pengam				• penetesan pewarna Kinyoun • Ketepatan melakukan pembilasan pewarna • Ketepatan melakukan penetesan pewarna Gabbet • Ketepat			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		atan menggunakan mikroskop 5.7. Ketepatan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan				an dalam melakukan pengamatan menggunakan mikroskop • Ketepatan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan			
6	Mahasiswa mampu Melakukan Pewarnaan	6.1 Menjelaskan melakuk	Pengertian pewarnaan Schaffer fulton,	• Skill lab	Non tes	• Ketepatan melakukan	8%	1x170’	1,2,3

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Schaffer fulton secara terampil, bertanggungjawab sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (C3,A2,P3)	an pembuatan reagen pewarnaan Schaffer fulton 6.2.Ketepatanmelakukan pembuatan preparat/ sediaan 6.3. Ketepatan melakukan penetesan pewarna Malasit	pembuatan reagen pewarna schaffer fulton, pembuatan preparat, penetesan pewarna malasit hijau, pemanasan preparat di atas api, pembilasan sisa pewarna,penetesan dengan pewarna safranin, pengamatan menggunakan mikroskop, dan pembacaan hasil			pembuatan reagen pewarnaan Schaffer fulton • Ketepatanmelakukan pembuatan preparat/sediaan • Ketepatan melakukan penetesan pewarna Malasit			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		hijau 6.4. Ketepatan melakukan pemanasan preparat 6.5. Ketepatan melakukan pembilasan pewarna 6.6. Ketepatan dalam melakukan penetesan	pewarnaan			hijau • Ketepatan melakukan pemanasan preparat • Ketepatan melakukan pembilasan pewarna • Ketepatan dalam melakukan penetesan			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		pewarna safranin 6.7. Menjelaskan dalam melakukan pengamatan menggunakan mikroskop 6.8. Menjelaskan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan				pewarna safranin • Ketepatan dalam melakukan pengamatan menggunakan mikroskop • Ketepatan dalam melakukan pembacaan hasil pewarn			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
						aan			
7	Mahasiswa mampu Melakukan Pewarnaan Klein secara terampil, bertanggungjawab sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (C3,A2,P3)	7.1 Menjelaskan melakukan pembuatan reagen pewarnaan klein 7.2. Menjelaskan melakukan pembuatan preparat/ sediaan 7.3. Ketepatan melakuk	Pengertian pewarnaan kapsul pembuatan reagen pewarnaan kapsul, pembuatan preparat, penetesan pewarna Gentian violet, pelunturan dengan cupri sulfat, pengamatan dengan mikroskop,dan pembacaan hasil pewarnaan	• Skill lab	Non tes	• Ketepatan melakukan pembuatan reagen pewarnaan klein • Ketepatanmelakukan pembuatan preparat /sediaan • Ketepatan melakukan penetesan pewarna	8	1 x 170’	1,2,3

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		an penetesan pewarna Carbol fuchsin 7.4. Ketepatan melakukan pemanasan preparat 7.5. Ketepatan melakukan pembilasan pewarna 7.6. Ketepata				Carbol fuchsiKetepatan melakukan pemanasan preparat • Ketepatan melakukan pembilasan pewarna • Ketepatan dalam melakukan penetesan H_2SO_4 1% • Ketepat			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		n dalam melakukan penetesan H_2SO_4 1% 7.7. Ketepatan dalam melakukan penetesan Loffler metilen biru 7.8. Ketepatan dalam melakukan pengamatan menggu				an dalam melakukan penetesan Loffler metilen biru • Ketepatan dalam melakukan pengamatan menggunakan mikroskop • Ketepatan dalam melaku			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		nakan mikroskop 7.9. Ketepatan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan				kan pembacaan hasil pewarnaan			
8	Mahasiswa mampu Melakukan Pewarnaan Kapsul secara terampil, bertanggungjawab sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang	8.1 Ketepatan melakukan pembuatan reagen pewarnaan kapsul 8.2.Ketepata	Pengertian pewarnaan kapsul pembuatan reagen pewarnaan kapsul, pembuatan preparat, penetesan pewarna Gentian violet,	• Skill lab	Non tes	• Ketepatan melakukan pembuatan reagen pewarnaan kapsul • Ketepatanmelak	8 %	1x 170’	1,2,3,6

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	tepat (C3,A2,P3)	nmelakukan pembuatan preparat/ sediaan 8.3. Ketepatan melakukan penetesan pewarna Gentian violet 8.4. Ketepatan melakukan peluntur anreagen cupri	pelunturan dengan cupri sulfat, pengamatan dengan mikroskop,dan pembacaan hasil pewarnaan			ukan pembuatan preparat /sediaan • Ketepatan melakukan penetesan pewarna Gentian viole • Ketepatan melakukan peluntur anreagen cupri sulfat • Ketepatan			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		sulfat 8.5. Ketepatan dalam melakukan pengamatan menggunakan mikroskop 8.6. Ketepatan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan				dalam melakukan pengamatan menggunakan mikroskop • Ketepatan dalam melakukan pembacaan hasil pewarnaan			
9,10,11	Mahasiswa mampu Melakukan	9.1 Ketepatan menjela	Pengertian Pemeriksaan ALT, pembuatan	• Skill lab	Non tes	• Ketepatan menjela	14%		12,3,7,8

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT) secara terampil, bertanggungjawab sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (C3,A2,P3)	skan pemeriksaan ALT 9.2 Ketepatan melakukan pembuatan reagen NaCl 0,9% untuk seri pengenceran 9.3 Ketepatan melakukan pembuatan media	reagen NaCl 0,9% untuk seri pengenceran, pembuatan media agar PCA (*Plate Count Agar*), persiapan dan penanaman sampel pada tabung seri pengenceran, teknik pengenceran, kultur hasil seri pengenceran pada plate, melakukan penuangan media PCA, Pembacaan hasil pertumbuhan kultur bakteri setiap seri pengenceran,			skan pemeriksaan ALT • Ketepatan melakukan pembuatan reagen NaCl 0,9% untuk seri pengenceran • Ketepatan melakukan pembuatan media			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		agar PCA (*Plate Count Agar*) untuk kultur sampel 10.1 Ketepatan melakukan persiapan dan penanaman sampel pada tabung seri pengenceran 10.2 Ketepatan	perhitungan koloni menggunakan *Colony Counter*, dan pencatatan hasil perhitungan koloni setiap seri pengenceran sesuai *Standart Plate Count*			agar PCA (*Plate Count Agar*) untuk kultur sampel • Ketepatan melakukan persiapan dan penanaman sampel pada tabung seri pengenceran • Ketepatan			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		dalam melakukan teknik pengenceran 10.3 Ketepatan dalam melakukan kultur hasil seri pengenceran pada plate 10.4 Ketepatan dalam melakukan penuan				dalam melakukan teknik pengenceran • Ketepatan dalam melakukan kultur hasil seri pengenceran pada plate • Ketepatan dalam melakukan penuang			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		gan media PCA 11.1 Ketepatan melakukan pembacaan hasil pertumbuhan kultur bakteri setiap seri pengenceran 11.2 Ketepatan dalam melakukan perhitun				an media PCA • Ketepatan melakukan pembacaan hasil pertumbuhan kultur bakteri setiap seri pengenceran • Ketepatan dalam melakukan perhitungan			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		gan koloni menggunakan *Colony Counter* 11.3 Ketepatan melakukan pencatatan hasil perhitungan koloni setiap seri pengenceran sesuai *Standart Plate Count*				koloni menggunakan *Colony Counter* • Ketepatan melakukan pencatatan hasil perhitungan koloni setiap seri pengenceran sesuai *Standart Plate Count*			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
12,13,14	Mahasiswa mampu Melakukan Pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN) secara terampil, bertanggungjawab sesuai standar pemeriksaan untuk menghasilkan informasi diagnostik yang tepat (C3,A2,P3)	12.1 Ketepatan menjelaskan pemeriksaan MPN 12.2 Ketepatan melakukan pemilihan tabung 12.3 Ketepatan melakukan pembuatan media *Lactose Broth Single*	Pengertian pemeriksaan MPN, pemilihan tabung, pembuatan media *Lactose Broth Single strength* dan *Double strength*, media BGLB, uji pendugaan, pemilihan media uji pendugaan, pembacaan hasil uji pendugaan, uji penegasan, pemilihan media uji penegasan, pembacaan hasil uji penegasan, dan pembacaan tabel MPN.	• Skill lab	Non tes	• Ketepatan menjelaskan pemeriksaan MPN • Ketepatan melakukan pemilihan tabung • Ketepatan melakukan pembuatan media *Lactose Broth Single strength*	14%	1 x 170’	1,2,3,9,10,11

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		strength dan *Double strength*, media BGLB 13.1 Ketepatan melakukan uji pendugaan 13.2 Ketepatan melakukan pemilihan media uji pendugaan 14.1 Ketepat				dan *Double strength*, media BGLB • Ketepatan melakukan uji pendugaan • Ketepatan melakukan pemilihan media uji pendugaa • Ketepatan melakukan			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		an melakukan pembacaan hasil uji pendugaan 14.2 Ketepatan melakukan uji penegasan 14.3 Ketepatan melakukan pemilihan media uji penega				pembacaan hasil uji pendugaan • Ketepatan melakukan uji penegasan • Ketepatan melakukan pemilihan media uji penegasan • Ketepatan dalam melakuk			

Minggu Ke-	Kemampuan Akhir yang Direncanakan (KD)	Indikator	Materi /Pokok Bahasan/ Sub-pokok Bahasan	Bentuk Pembelajaran (Metode)	Penilaian			Alokasi waktu	Referensi
					Teknik	Indikator	Bobot		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		san 14.4 Ketepatan dalam melakukan pembacaan hasil uji penegasan 14.5 Ketepatan dalam melakukan pembacaan tabel MPN				an pembacaan hasil uji penegasan • Ketepatan dalam melakukan pembacaan tabel MPN			
15	**UJIAN PRAKTEK**								

Mengetahui,

Ketua Program Studi,

Fitrotin Azizah, S.ST., M.Si.

Surabaya, Februari 2019

Dosen PJMK,

Dita Artanti, S.Si., M.Si.

TATA TERTIB PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI

1. Para praktikan harus sudah siap di depan ruang praktikum lima menit sebelum waktu praktikum dimulai.
2. Sebelum praktikum, eksperimen yang akan dikerjakan harus sudah dipersiapkan, dibuat rencana skema kerja dan pembagian waktunya, serta latar belakang teorinya harus sudah dikuasai.
3. Praktikan yang oleh dosen/instruktur dinilai tidak siap, tidak diperbolehkan mengikuti praktikum.
4. Segala pengamatan ditulis dalam buku catatan lab, dan pada lembar laporan dalam buku penuntun praktikum, jika ada.
5. Setiap kelompok diharuskan membuat satu laporan sementara untuk setiap eksperimen.
6. Praktikan hanya diperbolehkan menggunakan lab pada waktu praktikumnya sendiri, kecuali jika mendapat izin dari penanggung jawab praktikum.
7. Di dalam lab, praktikan diharuskan memakai baju praktikum (Jas Lab) dan alat pelindung dari (APD).
8. Inventarisasi alat – alat dilakukan pada waktu – waktu yang ditetapkan sebelum dan sesudah masa praktikum. Alat – alat yang diterima menjadi tanggung jawab kelompok. Jika ada alat yang pecah atau hilang, kelompok harus sudah menggantinya sebelum ujian akhir praktikum.
9. Selama praktikum harus dijaga ketenangan dan kebersihan.
10. Selama kegiatan praktikum tidak boleh makan, minum atau merokok di dalam lab.
11. Pelanggaran tata tertib ini akan mengakibatkan sangsi akademis.

PETUNJUK KERJA PRAKTIKUM BAKTERIOLOGI I

A. PERSIAPAN

1. Buatlah skema pembagian waktu kerja meliputi : urutan kerja yang dilakukan, apa yang akan dikerjakan lebih dulu, mana yang dapat dikerjakan bersama – sama, dll.
2. Alat – alat yang akan digunakan diatur rapi di meja praktikum, juga buku catatan, daftar – daftar, lap, korek api dan sebagainya.
3. Sebelum bekerja hal – hal yang belum jelas sebaiknya ditanyakan kepada dosen/instruktur.

B. SELAMA PRAKTIKUM

1. Bekerjalah dengan tenang, rapi, hati – hati, teliti, bersih dan hemat, tetapi juga cepat dan lebih teliti dari yang diperlukan menurut keadaannya.
2. Ingat kepentingan teman – teman sepraktikum. Kembalikan botol yang digunakan segera ke tempatnya supaya mudah dicari; jangan merebut botol yang sedang diperlukan orang lain. Sebaliknya, jangan terlalu lambat bekerja sehingga terpaksa orang menunggu lama, sabar menunggu giliran menggunakan sesuatu yang diperlukan bersama. Jangan membahayakan orang lain karena api, cara pemanasan larutan dan sebagainya.
3. Berbicara seperlunya dan tidak terlalu keras.
4. Jika meragukan sesuatu, bertanyalah pada dosen/instruktur.
5. Dalam mengerjakan sesuatu tidak boleh dengan perhatian setengah – setengah. Jangan sambil memperhatikan hal – hal lain, berbicara, bergurau dan sebagainya.
6. Jika mengambil reagen, tutup botol harus segera dipasang kembali untuk menghindari kekeliruan yang dapat merusak kemurnian isi botol (kontaminasi). **INGAT!! Media bersifat higroskopis**
7. Bahan-bahan yang pekat jangan langsung dibuang ke saluran atau bak, tetapi diencerkan dulu dengan air kran. Setelah membuangnya, bukalah kran secukupnya untuk menghilangkan daya bahan – bahan pekat tersebut. **Hal ini juga termasuk reagen pewarna tidak boleh langsung buang di wastafel harus diencerkan.**
8. Kertas saring dan benda padat lain harus dibuang ke tempat sampah atau tempat yang disediakan. Meja yang menjadi basah/kotor harus dibersihkan.

9. Hematlah terhadap penggunaan api, air dan reagen. Api tidak dipasang lebih besar dari yang diperlukan, air kran dan air destilat serta reagen untuk reaksi
   atau pembilas dipakai seperlunya saja (reaksi kerap kali gagal karena kelebihan reagen).
10. Jika suatu reagen diperlukan oleh banyak orang, carilah pekerjaan lain sehingga waktu tidak terbuang untuk menunggu (dalam hal ini perlu dibuat rencana pembagian waktu yang fleksibel dan harus diketahui betul – betul bahan yang akan dipakai).
11. **Apabila ada sampel yang tumpah di meja kerja segera dibersihkan dengan desinfektan.**
12. Mikroskop yang telah digunakan untuk pengamatan preparat dengan prosedur sebelumnya adalah pewarnaan. **HARUS segera dibersihkan lensa objektinya dengan tissue lens dan eter alkohol.**
13. **Sebelum mematikan mikroskop lampu harus pada kondisi batas redup atau paling rendah untuk mencegah kerusakan pada lampu yang cepat.**
14. Catatan – catatan pengamatan harus singkat, tegas tetapi jelas dan lengkap. Catatan yang panjang lebar dapat menghilangkan gambaran tentang isi keseluruhan.
15. Gunakan waktu yang luang untuk menyusun laporan praktikum.

C. SELESAI PRAKTIKUM

1. Bersihkan alat – alat, meja dan lain sebagainya.
2. Aturlah botol – botol, tempat duduk, alat-alat gelas, dan lain-lainnya.
3. Periksa apakah tidak ada kerusakan, jika ada segera laporkan pada laboran hal tersebut.
4. Buanglah sampah sesuai dengan jenisnya, di tempat sampah medis atau non medis. Untuk sampah-sampah pada umumnya pilahlah sesuai jenis sampah kering basah atau daur ulang.
5. Tunggulah ditempat masing – masing, laboran akan mengumpulkan buku jurnal dan memeriksa keperluan alat-alat dan meja praktikum.

DAFTAR ISI

Halaman Sampul Dalam

Visi dan Misi

SK Modul

Kata Pengantar i

Rencana Pembelajaran Semester ii

Tata Tertib praktikum x

Petunjuk kerja di laboratorium mikrobiologi xi

Daftar Isi xiii

I. Pendahuluan..... 1-2

II**.** Pembuatan Preparat / Sediaan 3-8

III. Pewarnaan Sederhana 9-11

IV.Pewarnaan Gram..... 12-16

V. Pewarnaan Ziehl Nielsen..... 17-21

VI. Pewarnaan Kinyon Gabbet 22-24

VII. Pewarnaan Scheffer Fulton..... 25-28

VIII.Pewarnaan Klein 29-30

IX. Pewarnaan Kapsul 31-33

X. Pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT)..... 34-37

XI.Pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN)..... 38-42

Daftar Pustaka

PENDAHULUAN

PEWARNAAN BAKTERI

Untuk mempelajari morfologi, bentuk, struktur, ukuran dan susunan bakteri dari sediaan hidup dan mati dapat dilakukan dengan cara pewarnaan.
Dalam hal ini akan dibahas tentang Pewarnaan Kuman/ Bakteri.

I. Tujuan Pewarnaan

1. Melihat bentuk dan letak susunan kuman
2. Mempelajari struktur
3. Struktur kimia
4. Pengaruh perkembangan dan pertumbuhan

Zat warna adalah zat kimia sintesis sejenis anilin (turunan fenol)

II. Tujuan Fiksasi

1. Agar sediaan kuman itu melekat pada objek sehingga tidak lepas pada sediaan saat dibilas dengan air.
2. Agar kuman yang hidup cepat mati.
3. Karena kuman yang mati akan lebih cepat menyerap warna sehingga pewarnaan lebih baik.
4. Bentuk kuman sebelum dan sesudah diwarnai tetap.
5. Sediaan kuman tahan lama disimpan.

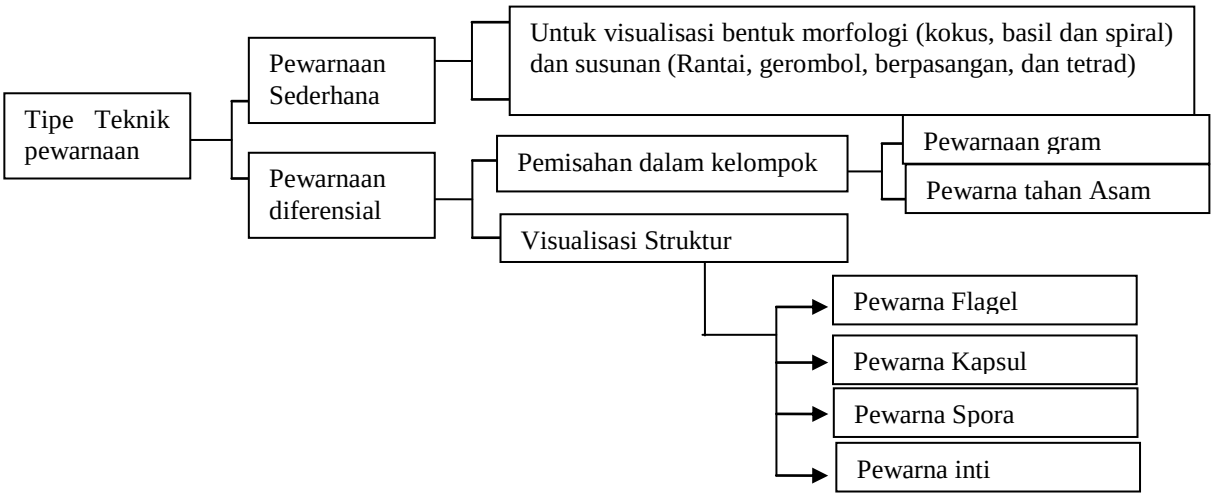
III. Macam-macam Pewarnaan Kuman

1. Pewarnaan Sederhana (Simple Staining/ Progressive Staining)
2. Pewarnaan Bertingkat (Differential Staining/ Regressive Staining)
   a. Pewarnaan Gram
   b. Pewarnaan Tahan Asam dengan cara: Zeihl Neelsen dan Kinyoun Gabbet
3. Pewarnaan Spora dengan cara:
   a. Schaeffer Fulton
   b. Klein
4. Pewarnaan Khusus (Special Staining)

a. Pewarnaan Polikromatik misal Giemsa

b. Pewarnaan Metakhromatik misal Loeffler, Neisser, Albert, Ljubinsky

5. Pewarnaan Negative
6. Pewarnaan Kapsul dengan cara Burry.



I. PEMBUATAN PREPARAT/ APUSAN BAKTERI

TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah menyelesaikan percobaan ini, diharapkan mahasiswa dapat:

1. Membuat Preparat/apusan dengan tepat sehingga akan mempermudah proses visualisasi bakteri secara mikroskopik dengan menggunakan semua macam pewarnaan.

DASAR TEORI

Pada dasarnya semua prosedur pewarnaan mikrobiologis membutuhkan preparasi smear sebelum perlakuan pada tiap teknik spesifik pewarnaan yang tercantum dibawah ini. Tekniknya meskipun sulit, memerlukan ketelitian yang cukup untuk preparasinya. Peraturan dasar berikut ini harus diikuti secara cermat.

1. Preparasi pada slide: kebersihan slide merupakan hal yang penting untuk preparasi smear mikroba. Lemak atau minyak dri jari pada slide harus dihilangkan denga mencuci slide dengan sabun dan air atau bubuk gosok, diikuti dengan bilasan air dan bilas dengan alkohol 95%. Slide harus dikeringkan dan diletakkan pada lap laboratorium sampai siap digunakan.
2. Preparasi smear: hindari terlalu tebal, ketebalan smear sangatlah penting. Smear yang baik hanya sekali, jika sudah kering, nampak lapisan putih yang tipis. Untuk pembuatan dari kultur broth atau kultur medium padat memerlukan teknik yang berbeda.
    a. **Kultur broth (cair):** satu atau dua loop penuh suspensi sel langsung letakkan pada slide dengan loop inokulasi steril dan oleskan merata pada area tertentu kira-kira seukuran koin.
    b. **Kultur dari medium padat:** kultur organisme pada medium padat cukup tebal, ketebalan pertumbuhan ada di permukaan dan dianjurkan tidak langsung dipindahkan ke slide. Kultur ini harus diencerkan terlebih dahulu dengan meletakkan satu loop penuh air pada slide dimana kemudia sel akan diemulsikan. Pindahkan sel dari kultur yang

diinginkan menggunakan jarum inokulasi steril. Hanya ujung jarum yang disentuhkan pada kultur untuk menghindari pemindahan terlalu banyak sel. Suspensi dilakukan dengan menyebarkan sel dengan gerakan sirkuler pada tetes air dengan ujung jarum. Terakhir smear harus berupa area seukuran koin logam. Dan nampak semitransparan, rata, dan putih tipis. Sebelum melanjutkan prosedur, smear harus kering sempurna. **Jangan meniup slide atau mengayunkannya di udara.**

3. **Fiksasi panas:** jika slide tidak difiksasi, smear bakteri akan tercuci selama prosedur pewarnaan. Hal tersebut dihindari dengan fiksasi panas, selama melakukan fiksasi protein bakteri terkoagulasi dan menempel pada permukaan slide. Fiksasi panas dilakukan dengan melewatkan secara cepat smear yang dikering-udarakan dua atau tiga kali pada api bunsen.

Tujuan :Untuk membuat preparat/ sediaan dari sampel padat maupun cair

Alat : - Ose
- Objek Glass
- Api Spiritus

Reagen : - Pz (Phisiologi Zolution) / NaCl 0.85-0.9 %

Bahan : Biakan padat maupun cair dari kultur murni (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan lainnya), sputum (dahak), usap tenggorok, usap hidung, pus (nanah) dan lain-lain.

Prosedur :

1. Dari Media Cair
   a. Menyiapkan semua Alat dan reagent dimeja kerja
   b. Menyeteril /memijarkan ose dengan api spirtus dan kemudian didinginkan
   c. Mengambil bahan sebanyak 1 mata ose dan buat apusan pada obyek glass hingga tipis dengan ukuran kira-kira 1 x 1,5 cm
   d. Menyeteril /memijarkan ose kembali
   e. Mengeringkan preparat dengan cara diangin-anginkan hingga terlihat bercak putih di obyek glass

f. Menfiksasi obyek glass 3x di atas api spirtus
g. Preparat siap di warnai

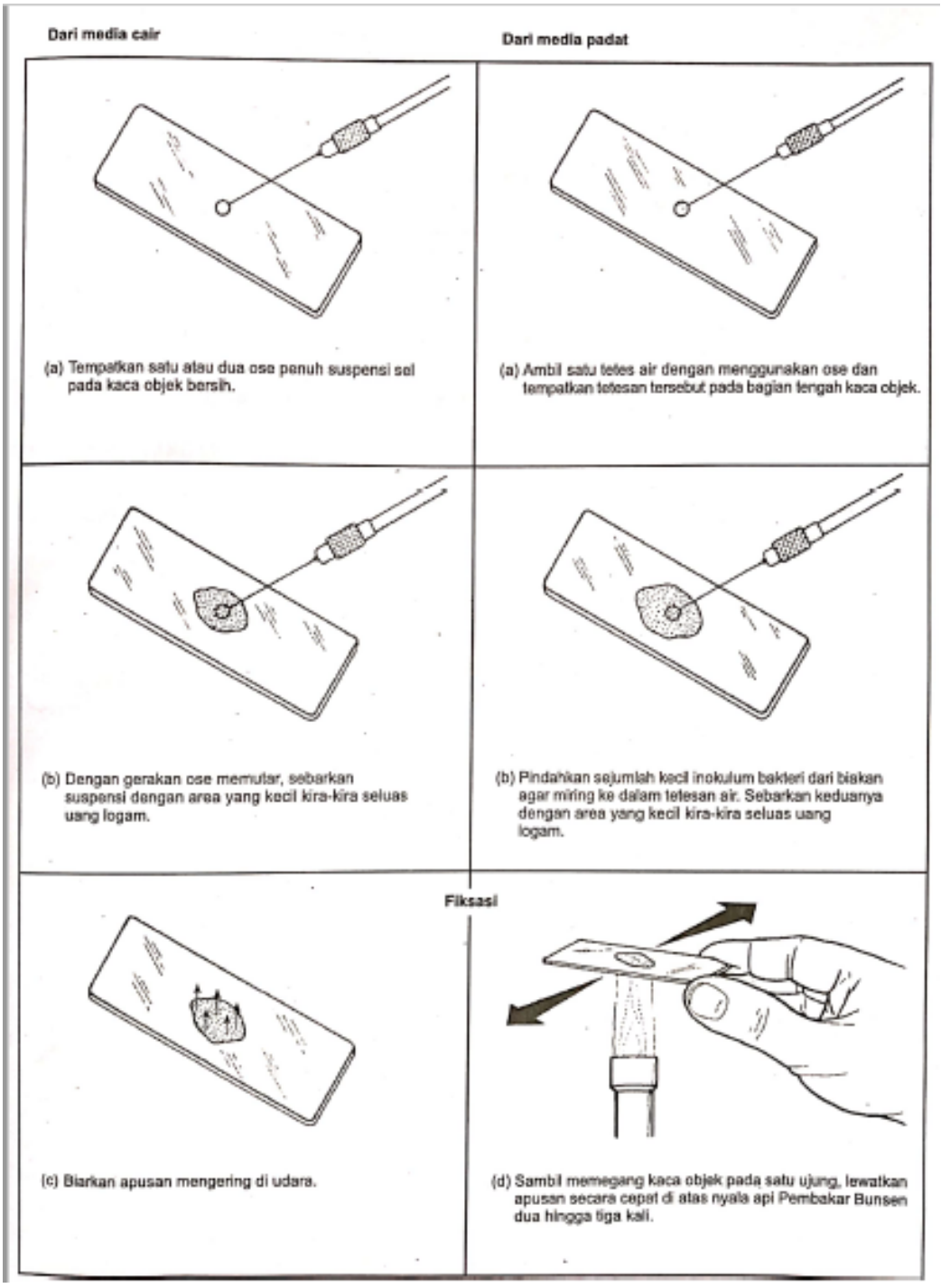
2. Dari Media Agar /padat
   a. Menyiapkan semua Alat dan reagent di meja kerja
   b. Menyetril/memijarkan Ose dengan api spirtus dan kemudian mendinginkannya.
   c. Mengambil 1-2 mata ose PZ letakkan pada slide, mengambil bahan sebanyak 1 mata ose dan buat apusan pada obyek glass hingga tipis dengan ukuran kira-kira 1 x 1,5 cm
   d. Menyeteril/memijarkan Ose kembali
   e. Mengeringkan preparat dengan cara diangin-anginkan hingga terlihat bercak putih di obyek glass
   f. Menfiksasi obyek glass 3x di atas api spirtus
   g. Preparat siap di warnai
3. Sputum
   a. Semua Alat dan reagen disiapkan dimeja kerja
   b. Menyeteril/memijarkan Ose dengan api spirtus dan kemudian didinginkan
   c. Mengambil bahan yang kental dengan cara sedikit menggeser ose tanpa menekan dan membuat apusan pada obyek glass hingga tipis dengan ukuran kira-kira 1 x 1,5 cm
   d. Memasukkan / mencelupkan Ose pada pasir alkohol
   e. Menyeteril Ose kembali
   f. Mengeringkan dengan cara mengangin-anginkan hingga terlihat bercak putih di obyek glass
   g. Menfiksasi obyek glass 3x di atas api spirtus
   h. Mewarnai preparat

Catatan :

1. Ose steril adalah ose yang dibakar dalam api spirtus sampai merah membara kemudian didinginkan.

2. Swab steril digunakan untuk mengambil specimen usap tenggorok, usap hidung dan pus/ nanah, ose steril digunakan untuk mengambil specimen sputum.
3. Fiksasi adalah melidah apikan / melewatkan punggung slide (sediaan berada di atas) dalam nyala api sebanyak 3 kali.
4. Tujuan fiksasi : untuk mematikan kuman, tidak merubah morfologi, melekatkan pada obyek glass dan sediaan kuman lebih tahan lama untuk disimpan.
5. Fungsi PZ : untuk membuat suspensi kuman atau meratakan kuman pada preparat
6. Obyek glass yang dipakai harus bersih dan bebas lemak
7. Pembuatan slide / preparat harus tipis, rata, tidak ada gelembung udara, berbentuk oval (+ 2 x 3 cm)
8. Setelah preparat difiksasi, harus didinginkan dulu kemudian baru dituangi reagen pewarnaan

   Untuk lebih jelasnya prosedur dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini:



Gambar 1. Prosedur Pembuatan Apusan Bakteri

Hasil pengamatan :

II. PEWARNAAN SEDERHANA

TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah menyelesaikan percobaan ini, Anda dapat:

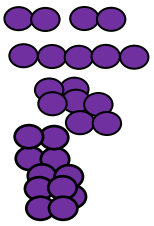
1. Melakukan prosedur pewarnaan sederhana
2. Membandingkan bentuk morfologis dan susunan sel-sel bakteri

PRINSIP

Pada **pewarnaan sederhana,** apusan bakteri diwarnai dengan suatu pereaksi tunggal (menggunakan satu bahan pewarna saja), yang menghasilkan warna yang sangat kontras antara mikroorganisme dengan latar belakangnya. Pewarna-pewarna basa dengan kromogen bermuatan positif lebih disukai karena asam nukleat bakteri dan komponen-komponen dinding sel tertentu bermuatan negatif sehingga kuat tertarik dan terikat pada kromagen kationik. Pewarna-pewarna basa yang paling sering digunakan yaitu metilen biru, kristal violet, dan karbol fuksin.

MORFOLOGI KUMAN

- Berdasarkan bentuknya bakteri dibagi menjadi 3 kelompok:
  1. Coccus : Bulat
  2. Bacil : Batang
  3. Spiral : Batang melengkung atau melingkar
- **COCCUS**
  a. Diplococcus/ berduaan :
  b. Streptococcus/ berderet :
  c. Staphylococcus/ bergerombol :
  d. Tetracoccus/ berempat :
  e. Sarcina/ seperti kubus :



- **BACIL**
  a. Diplobacil/ berdua : -- -- --
  b. Streptobacil/ berderet : ------ ------- -------
  c. Roset :
  d. Palisade/ pagar : IIIII IIIII IIIII
- **SPIRAL**
  a. Koma : , , , , ,
  b. Spiral :

ALAT DAN BAHAN

Alat : - Jembatan Pewarnaan
- Obyek Glass/ Kaca objek
- Ose bulat / sengkelit
- Lampu Spiritus
- Mikroskop
- Kertas lensa

Reagent : Bahan pewarna, PZ atau NaCl 0,9%

Bahan : Biakan *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* pada agar miring nutrien dan biakan *Staphylococcus aureus* pada kaldu nutrien

Prosedur :

1. Menyiapkan apusan bakteri yang terpisah sesuai prosedur pada pertemuan I. ***Catatan: semua apusan harus difiksasi dengan pemanasan sebelum diwarnai***
2. Menempatkan kaca objek pada bak pewarnaan dan mengenangi apusan dengan salah satu zat warna dan biarkan 1-3 menit.
3. Kemudian membilas apusan *perlahan* dengan air dan mengeringkannya.
4. Mengamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000X

Catatan :Bahan pewarna yang digunakan adalah methylen blue (biru), Safranin (merah), Carbol Fuchsin (merah), Air Fuchsin (merah),Gentian violet (ungu), Kristal Violet (ungu), Loffler methylin blue (biru) atau Malachite green (hijau). Saat mewarnai jangan sampai pewarna menjadi kering atau habis karena posisi jembatan pewarnaan yang miring.

Hasil pengamatan secara mikroskopis:

Metilen Biru	Kristal Violet
Organisme :	Organisme :
Morfologi sel:	Morfologi sel:
Bentuk	Bentuk
Susunan	Susunan
Warna sel	Warna sel

Karbol Fuchsin	Malachite green
Organisme :	Organisme :
Morfologi sel:	Morfologi sel:
Bentuk	Bentuk
Susunan	Susunan
Warna sel	Warna sel

III. PEWARNAAN GRAM

TUJUAN PEMBELAJARAN:

Setelah menyelesaikan percobaan ini, Anda dapat:

1. Melakukan prosedur pewarnaan sederhana
2. Membandingkan bentuk morfologis dan susunan sel-sel bakteri

PRINSIP

Pewarnaan differensial memerlukan penggunaan sedikitnya tiga pereaksi kimia yang diberikan secara bertahap pada apusan yang telah difiksasi dengan pemanasan. Pereaksi pertama disebut **pewarna primer.** Fungsi pewarna primer adalah untuk memberikan warna kepada semua sel. Untuk menghasilkan kontras warna, pereaksi kedua yang digunakan adalah **senyawa pemucat.** Pereaksi terakhir adalah **pewarna tandingan.** Pewarnaan differensial yang paling penting yang digunakan pada bakteriologi adalah **Pewarnaan Gram.** Pewarnaan Gram adalah suatu cara mewarnai bakteri, dimana dengan pewarnaan ini bakteri dapat dibedakan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok Gram Positif dan Gram Negatif. Pada bakteri Gram Positif dapat mempertahankan bahan pewarna basa (Pewarna primer) yaitu ungu (Kristal violet) walaupun telah diberi bahan peluntur alkohol, maka bakteri tampak ungu tua. Sedang pada bakteri Gram Negatif kehilangan ungu Kristal ketika dilunturkan dengan alkohol. Sewaktu diberi bahan pewarna pembanding (pewarna tandingan) yaitu safranin atau air fuchsin bakteri akan mengikatnya, maka tampak merah.

Tahun 1884 dr. Christian gram membuat zat warna khusus untuk mewarnai bakteri. Pewarnaan ini merupakan tekhnik pewarnaan differential (bertingkat) yaitu tekhnik pewarnaan yang menggunakan lebih dari satu zat warna.

Tahapan pewarnaan Gram

Zat warna dan urutan penggunaannya	Reaksi bakteri	
	Gram (+)	Gram (-)
1. Kristal violet/ carbol gentian violet	Sel berwarna ungu	Sel berwarna ungu
2. Lugol	Ikatan komplek Kristal Violet - Iodium terbentuk dalam sel, sel tetap berwarna ungu.	Ikatan komplek Kristal Violet - Iodium terbentuk dalam sel, sel tetap berwarna ungu.
3. Alkohol 70/ 96%	Dinding sel dehidrasi, pori-pori menciut, daya rembes dinding sel dan Ikatan komplek Kristal Violet - Iodium tidak keluar → sel tetap ungu	Lipid terekstraksi dari dinding, pori-pori mengembang, Ikatan komplek Kristal Violet - Iodium keluar dari sel → sel tidak berwarna.
4. Safranin	Sel tidak berpengaruh/ tidak terwarnai (tetap berwarna ungu)	Sel menyerap warna tersebut dan menjadi merah.

ALAT DAN BAHAN

Alat : - Jembatan Pewarnaan
- Obyek Glass
- Ose bulat / sengkelit
- Lampu Spiritus

Reagent : 1. Gram I
a. Kristal Violet 0,5 %
b. Karbol Gentiant Violet 0,5 %
2. Gram II : Lugol
3. Gram III : Alkohol 70% atau 96 %
4. Gram IV
a. Air Fuchsin 0,5 %
b. Safranin 0,5 %
5. PZ (NaCl 0,9%)

Bahan : Sampel biakan pada media padat maupun cair

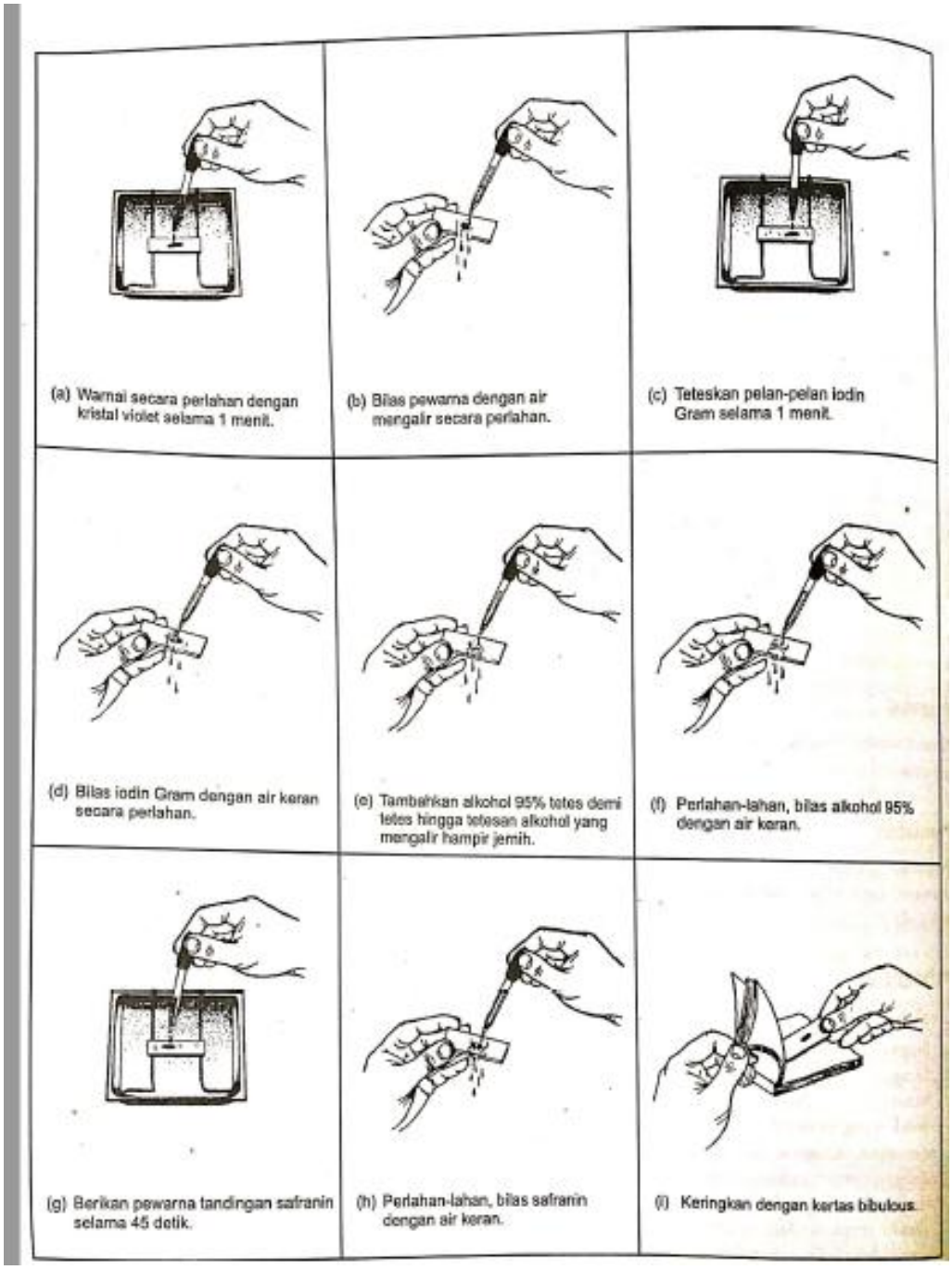
Prosedur :

1. Mengenangi sediaan Karbol Gentian Violet 0,5%, dibiarkan selama 1 menit dan dibilas dengan air yang mengalir pelan-pelan.

2. Menuangi lugol dan membiarkan selama 1 menit, kemudian membuang cat
3. Melunturkan dengan alkohol 70%/ 96% dan dibiarkan selama 10 – 30 detik, lalu membilas dengan air.
4. Menuangi air fuchsin 0,5% selama 1 menit, kemudian mencuci dengan air mengalir pelan-pelan lalu mengeringkannya.
5. Mengamati dengan mikroskop dengan pembesaran 1000 x yaitu lensa objektif 100 x dengan ditambah minyak imersi dan lensa okuler 10 x.

Catatan :

1. Yang termasuk Pewarna : Gram I dan Gram IV
2. Tujuan Lugol sebagai Mordant
3. Tujuan Alkohol sebagai peluntur
4. Kuman yang berwarna ungu adalah Gram Positif dan yang berwarna merah adalah Gram Negatif.
5. Olesan preparat yang terlalu tebal perlu pelunturan yang berulang-ulang.
6. Saat mewarnai jangan sampai pewarna menjadi kering atau habis karena posisi jembatan pewarnaan yang miring.
   Untuk lebih jelasnya prosedur pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini:



Gambar 2. Prosedur Pewarnaan Gram

Hasil pengamatan:

E.coli Morfologi sel: Bentuk Susunan Warna sel Reaksi Gram	*Bacillus Subtilis* Morfologi sel: Bentuk Susunan Warna sel Reaksi Gram
S. aureus Morfologi sel: Bentuk Susunan Warna sel Reaksi Gram	 Morfologi sel: Bentuk Susunan Warna sel Reaksi Gram

IV. PEWARNAAN ZIEHL NIELSEN

TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah menyelesaikan percobaan ini, Anda dapat :

1. Dasar kimia pewarnaan tahan asam
2. Memahami prosedur untuk membedakan bakteri ke dalam kelompok tahan asam dan tidak tahan asam dengan menggunakan pewarnaan Ziehl Nielsen

PRINSIP

Perbedaan antar kuman tahan asam dan kuman tidak tahan asam terletak pada lapisan lilin (wax) dari dinding selnya. Bila dinding sel itu dipanasi dengan api kecil maka lapisan lilin larut (mencair) dan memudahkan sel kuman menyerap zat warna (pewarnaan Zeihl Nielsen) atau sifat kuman tahan asam sulit diwarnai tetapi bila sudah mengikat zat warna sulit dilunturkan oleh asam atau basa kuat. Pewarnaan tahan asam menggunakan tiga pereaksi yang berbeda antara lain **pewarna primer, senyawa pemucat dan pewarna tandingan.** Pewarna primer yaitu karbol fuksin, setelah pemberian pewarna primer, seluruh sel akan tampak merah. Senyawa pemucat yaitu Asam-alkohol (HCl 3% + Etanol 95%) sebelum pemucatan apusan didinginkan terlebih dahulu sehingga zat lilin sel mengeras, sedangkan pewarna tandingan adalah metilen biru.

Pewarnaan tahan asam adalah suatu cara mewarnai kuman/ bakteri tahan asam dengan pewarnaan Ziehl Nielsen, dimana bakteri ini mengandung asam lemak rantai panjang yang disebut asam mikolik, hal ini menyebabkan sifat tahan asam terhadap pelunturan alkohol asam. Pewanaan ini merupakan pewarnaan defferential.

ALAT DAN BAHAN

Alat : - Objek Glass
- Jembatan pewarnaan
- Ose Bulat

- Api Spiritus
- Mikroskop
- Handscoon
- Masker

Reagent : - Karbol Fuchsin 0,3%
- Asam Alkohol (HCl Alkohol) 3%
- Metilen Biru 0,3%

Bahan : Sputum dan biakan *E.coli*

Prosedur :

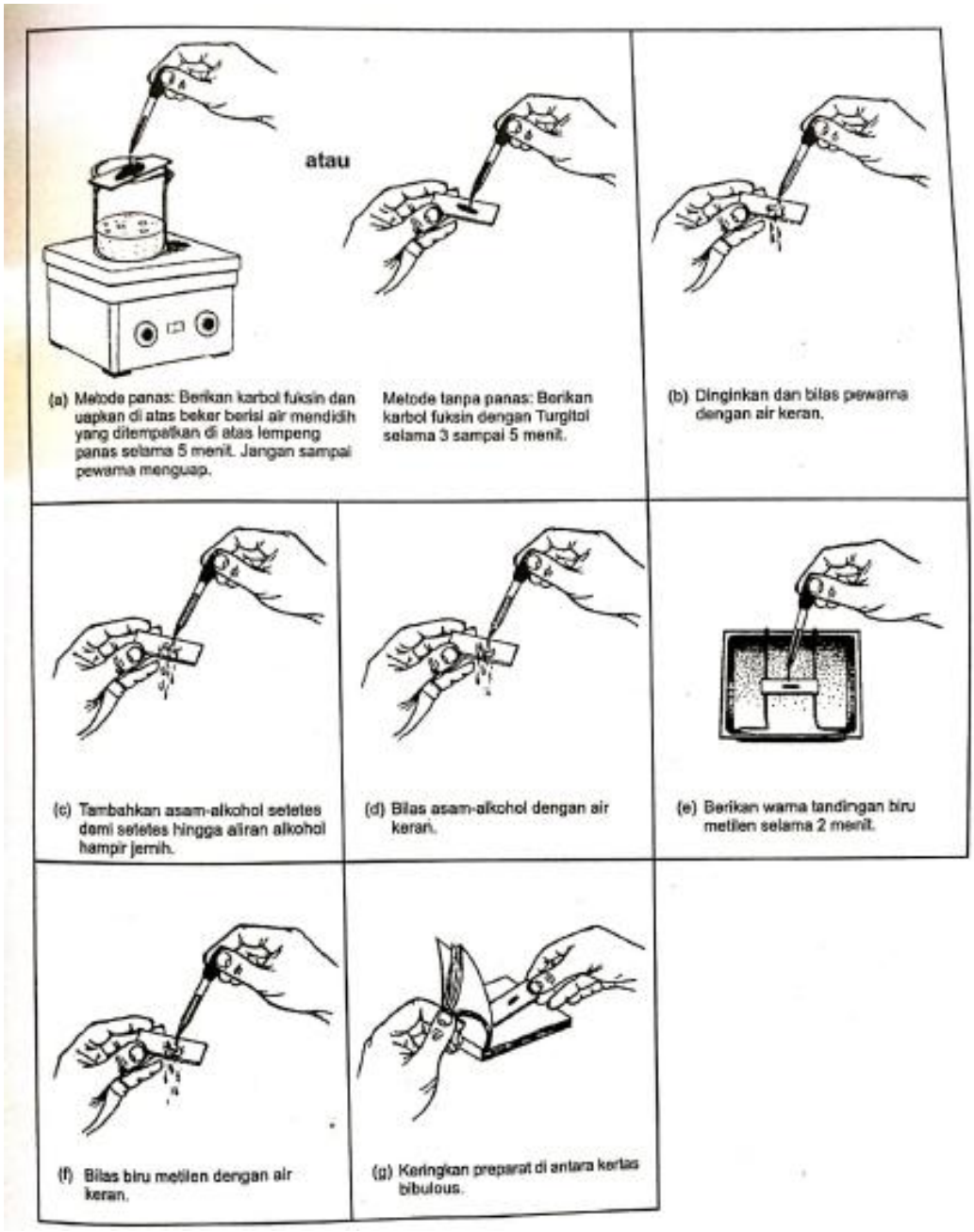
1. Menuangi preparat yang telah difiksasi dengan Carbol Fuchsin, bakar dengan nyala api selama 5 menit (jangan sampai mendidih karena dapat merusak morfologi kuman, hanya sampai keluar uap saja).
2. Setelah dingin membuang pewarna dan membilas dengan air kran.
3. Menuangi dengan asam alkohol sampai sisa warna luntur, menunggu kurang lebih 30 detik, bilas dengan air kran.
4. Menuangi dengan pewarna methylen blue selama 1 menit, membilas dengan air kran dan keringkan di udara.
5. Memeriksa dibawah mikroskop dengan obyektif 100 X (oil imersi) Bakteri Tahan Asam akan tampak berwarna merah dan kuman yang lainnya akan tampak biru (Bakteri tidak tahan asam).
6. Melaporkan hasil pengamatan menurut IUAT (*International Union Against Tuberculosis*)

Catatan :

MIKROSKOPIS	CARA PELAPORAN
Tidak ditemukan BTA / 100 LP	negatif
1-9 BTA / 100 LP	Ditulis jumlah BTA yang ditemukan
10-99 BTA / 100 LP	1 positif IU
1-10 TA / 1 LP	2 positif IU
>10 BTA / 1 LP	3 positif IU

Bila ditemukan 1-3 BTA dalam 100 lapang pandang, pemeriksaan harus diulang dengan specimen dahak yang baru. Bila hasilnya tetap 1-3 BTA, hasilnya dilaporkan negatif. Bila ditemukan 4-9 BTA, dilaporkan positif.

Untuk lebih jelasnya prosedur pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 3 di bawah ini:



Gambar 3. Pewarnaan Tahan Asam

Hasil pengamatan:

Sputum

Morfologi sel:

Bentuk

Susunan

Warna sel

Reaksi Tahan - asam

Sputum

Morfologi sel:

Bentuk

Susunan

Warna sel

Reaksi Tahan - asam

E.coli Morfologi sel: Bentuk Susunan Warna sel Reaksi Tahan - asam

V. PEWARNAAN KINYOUN GABBET

TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah menyelesaikan percobaan ini, Anda dapat :

1. Dasar kimia pewarnaan tahan asam
2. Memahami prosedur untuk membedakan bakteri ke dalam kelompok tahan asam dan tidak tahan asam dengan menggunakan pewarnaan Kinyoun Gabbet

PRINSIP

Pewarnaan tahan asam adalah suatu cara mewarnai kuman/ bakteri tahan asam dengan pewarnaan Kinyoun Gabbet, dimana bakteri ini mengandung asam lemak rantai panjang yang disebut asam mikolik, hal ini menyebabkan sifat tahan terhadap pelunturan dengan alkohol asam.

ALAT DAN BAHAN

Alat : - Objek Glass
- Jembatan pewarnaan
- Ose Bulat
- Api Spiritus
- Mikroskop
- Handscoon
- Masker

Reagent : - Kinyoun
  - Basic Fuchsin 4 gr
  - Phenol pekat 8 ml
  - Alkohol 96% 20 ml
  - Aquadest 100 ml
- Gabbet
  - Methylene Biru 1 gr
  - H_2SO_4 Pekat 20 ml
  - Alkohol 96% 30 ml
  - Aquadest 50 ml

Bahan : Sampel sputum dan biakan *E.coli*

Prosedur :

1. Menuangi sediaan yang telah difiksasi dengan pewarnaan Kinyoun selama 3 menit.
2. Membuang cat dan membilas dengan air kran sampai warna merah tidak luntur lagi (sampai air bilasan jernih).
3. Menuangi dengan pewarna Gabbet selama 1-2 menit.
4. Membilas dengan air kran dan Mengeringkan di udara.
5. Memeriksa dibawah mikroskop dengan obyektif 100 x (oil imersi) Bakteri Tahan Asam akan tampak berwarna merah dan kuman yang lainnya akan tampak biru.
6. Melaporkan hasil pengamatan menurut IUAT (*International Union Against Tuberculosis*)

Catatan :

MIKROSKOPIS	CARA PELAPORAN
Tidak ditemukan BTA / 100 LP	negatif
1-9 BTA / 100 LP	Ditulis jumlah BTA yang ditemukan
10-99 BTA / 100 LP	1 positif IU
1-11 TA / 1 LP	2 positif IU
>10 BTA / 1 LP	3 positif IU

Bila ditemukan 1-3 BTA dalam 100 lapang pandang, pemeriksaan harus diulang dengan specimen dahak yang baru. Bila hasilnya tetap 1-3 BTA, hasilnya dilaporkan negatif. Bila ditemukan 4-9 BTA, dilaporkan positif.

Hasil pengamatan:

Sputum

Morfologi sel:

Bentuk

Susunan

Warna sel

Reaksi Tahan - asam

E.coli Morfologi sel: Bentuk Susunan Warna sel Reaksi Tahan - asam

VI. PEWARNAAN SCHAEFFER FULTON

TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah menyelesaikan percobaan ini, Anda dapat:

1. Memahami dasar kimia pewarna spora
2. Memahami prosedur untuk pembedaan antara spora bakterial dan bentuk sel vegetatif

PRINSIP

Anggota-anggota genus anaerob *Clostridium* dan *Desulfotomaculum* dan genus aerob *Bacillus* adalah contoh organisme-organisme yang memiliki kapasitas untuk ada baik sebagai **sel-sel vegetatif** yang aktif secara metabolik maupun sebagai tipe sel yang tak-aktif secara metabolik dan sangat resisten, yang disebut **spora**. Ketika kondisi lingkungan tidak baik untuk keberlangsungan aktivitas sel vegetatif, terutama dengan kekurangan sumber karbon nutrisi, sel-sel itu memiliki kapasitas untuk mengalami **sporogenesis** dan menjadi suatu bentuk struktur intraseluler baru yang disebut **endospora**, yang dikelilingi suatu lapisan kedap air yang disebut selubung spora. Seiring memburuknya kondisi, endospora dilepaskan dari sel vegetatif yang berdegenerasi dan menjadi suatu sel mandiri disebut **spora.**

Pewarnaan yang dapat digunakan untuk melihat kuman berspora misalnya: *Clostridium tetani* (spora lebih besar dari lebar badannya) dan *Bacillus sp*. (spora lebih kecil dari lebar badannya). Spora umumnya tidak mudah diwarnai dengan cat pewarna, tetapi sekali diwarnai zat warna tersebut akan sulit dilunturkan. Pewarna primer yaitu *Malachite green*, senyawa pemucat adalah air, dan pewarna tandingan adalah safranin.

ALAT DAN BAHAN

Alat : - Objek Glass
- Jembatan pewarnaan
- Ose Bulat
- Api Spiritus
- Mikroskop
- Handscoon
- Masker

Reagent : - Malasit green 5 %
- Safranin 0,5 %
- PZ (NaCl 0,9%)

Bahan : Sampel padat maupun cair

Prosedur :

1. Menuangi sediaan yang telah difiksasi dengan pewarnaan Malasit Green kemudian memanaskan sampai menguap tetapi tidak mendidih dan biarkan selama 5-10 menit.
2. Membilas Sediaan dengan air yang mengalir pelan-pelan sampai zat warna tidak luntur lagi.
3. Kemudian menggenangi dengan safranin dan membiarkan selama 1 menit, membilas dengan air yang mengalir pelan-pelan dan mengeringkannya.
4. Memeriksa dibawah mikroskop dengan obyektif 100 x (oil imersi).

Catatan :Spora berwarna hijau dan bentuk vegetatif berwarna merah.

Macam-macam letak spora:

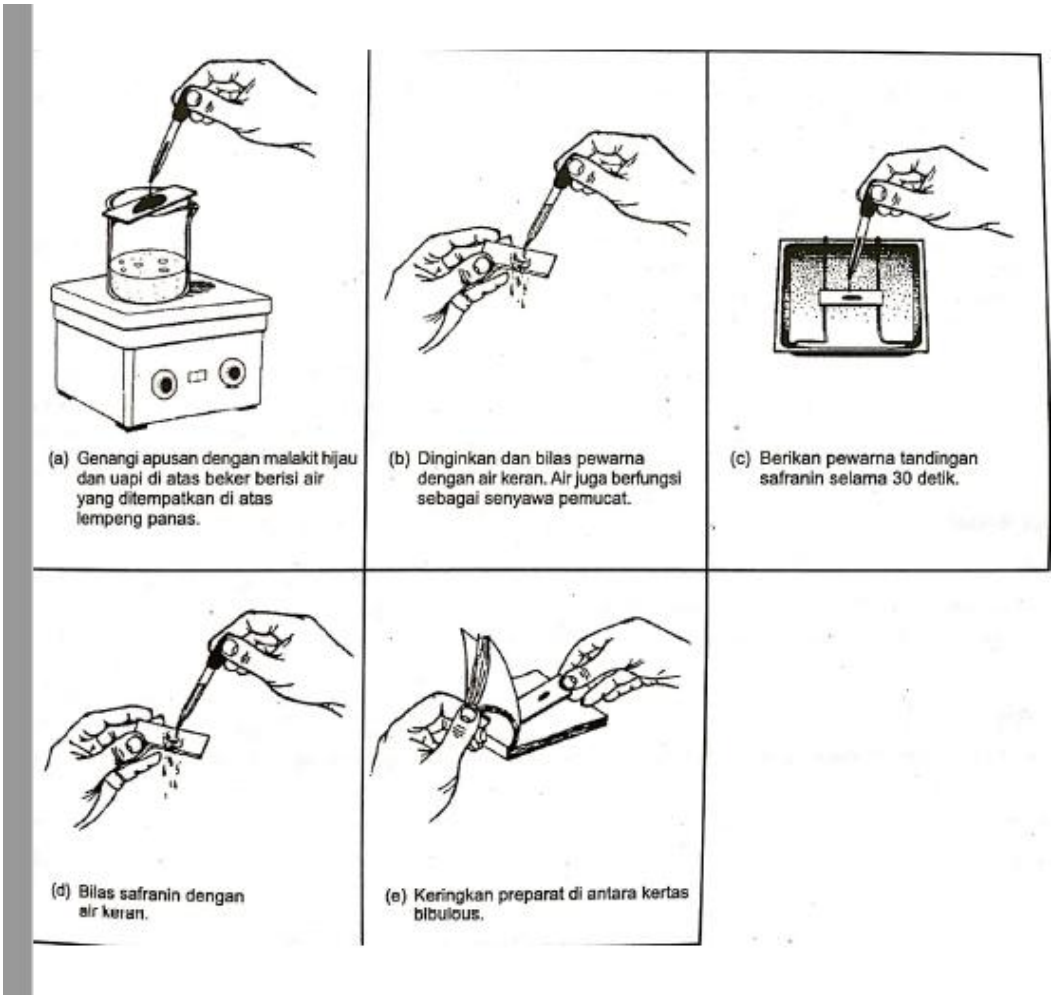
1. Terminal : spora terletak di ujung (*Bacillus sp.)* (*Clostridiun tetani)*

2. Sub terminal : spora terletak agak di ujung (*Bacillus sp.)*

3. Sentral : spora yang terletak di tengah (*Bacillus sp.)*

Spora berwarna hijau dan sitoplasma berwarna merah.

Untuk lebih jelasnya prosedur pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini:



Gambar 4. Pewarnaan Spora

Hasil pengamatan:

Nama kuman: Warna spora Warna sel vegetatif Lokasi endospora

VII. PEWARNAAN KLEIN

TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah menyelesaikan percobaan ini, Anda dapat:

1. Memahami dasar kimia pewarna spora
2. Memahami prosedur untuk pembedaan antara spora bakterial dan bentuk sel vegetatif

PRINSIP

Anggota-anggota genus anaerob *Clostridium* dan *Desulfotomaculum* dan genus aerob *Bacillus* adalah contoh organisme-organisme yang memiliki kapasitas untuk ada baik sebagai **sel-sel vegetatif** yang aktif secara metabolik maupun sebagai tipe sel yang tak-aktif secara metabolik dan sangat resisten, yang disebut **spora**. Ketika kondisi lingkungan tidak baik untuk keberlangsungan aktivitas sel vegetatif, terutama dengan kekurangan sumber karbon nutrisi, sel-sel itu memiliki kapasitas untuk mengalami **sporogenesis** dan menjadi suatu bentuk struktur intraseluler baru yang disebut **endospora**, yang dikelilingi suatu lapisan kedap air yang disebut selubung spora. Seiring memburuknya kondisi, endospora dilepaskan dari sel vegetatif yang berdegenerasi dan menjadi suatu sel mandiri disebut **spora.**

Pewarnaan yang dapat digunakan untuk melihat kuman berspora misalnya: *Clostridium tetani* (spora lebih besar dari lebar badannya) dan *Bacillus sp*. (spora lebih kecil dari lebar badannya). Spora umumnya tidak mudah diwarnai dengan cat pewarna, tetapi sekali diwarnai zat warna tersebut akan sulit dilunturkan.

ALAT DAN BAHAN

Alat : - Objek Glass
- Jembatan pewarnaan
- Ose Bulat
- Api Spiritus
- Mikroskop
- Handscoon
- Masker

Reagent : - PZ (NaCl 0,9%)
- Carbol fuchsin / safranin
- H_2SO_4 1%
- Loeffler Methylen blue

Bahan : Sampel padat maupun cair

Prosedur :

1. Menuangi sediaan yang telah difiksasi dengan pewarna Carbol fuchsin kemudian dipanaskan sampai menguap (tidak mendidih) selama 8-10 menit.
2. Membuang cat dan dilunturkan dengan H_2SO_4 1% selama 30 detik lalu dicuci dengan air.
3. Menuangi dengan pewarna Loeffler methylen blue selama 1 – 2 menit.
4. Mencuci dengan air dan mengeringkan dengan tissue.
5. Memeriksa sediaan dibawah mikroskop dengan perbesaran obyektif 100X (oil imersi).

Catatan : Macam-macam letak spora:

1. Terminal : spora terletak di ujung (*Bacillus sp.)* (*Clostridiun tetani)*
2. Sub terminal : spora terletak agak di ujung (*Bacillus sp.)*
3. Sentral : spora yang terletak di tengah (*Bacillus sp.)*

Spora berwarna hijau dan sitoplasma berwarna merah.

Hasil pengamatan:

Nama kuman: Warna spora Warna sel vegetatif Lokasi endospora

VIII. PEWARNAAN KAPSUL

TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah menyelesaikan percobaan ini, Anda dapat:

1. Memahami dasar kimia pewarna kapsul
2. Memahami prosedur untuk membedakan material kapsular sel bakteri dengan menggunakan pewarnaan Kapsul (Burry gins)

PRINSIP

Kapsul merupakan lapisan luar bergelatin yang disekresikan oleh sel dan yang mengelilingi serta menempel pada dinding sel. Kapsul tidak banyak dijumpai pada semua organisme. Sel-sel yang memiliki kapsul tebal biasanya bersifat virulen dan dapat menyebabkan penyakit karena struktur kapsul melindungi bakteri dari aktivitas fagositik normal sel-sel inang. Secar kimia bahan kapsul sebagian besar tersusun dari polisakarida kompleks seperti levan, dekstran, dan selulosa.

Pewarnaan kapsul lebih sulit dibandingkan dengan jenis prosedur pewarnaan differensial lainnya karena bahan kapsul bersifat larut air dan dapat dilepaskan atau dihilangkan dengan pembilasan berlebih. Apusan tidak boleh dipanaskan karena penyusutan sel yang dihasilkan dapat membentuk suatu zona jernih di sekitar organisme, yang disebut artefak, yang dapat terlihat seperti kapsul. **Pewarna primer** adalah kristal violet dan **senyawa pemucat** adalah tembaga sulfat.

Ciri kuman berkapsul, apabila ditanam pada media differential secara makroskopis bersifat mukoid atau koloni terlihat berlendir contohnya *Klebsiella sp*.

ALAT DAN BAHAN

Alat : - Objek Glass
- Jembatan pewarnaan
- Ose Bulat
- Api Spiritus
- Mikroskop
- Handscoon
- Masker

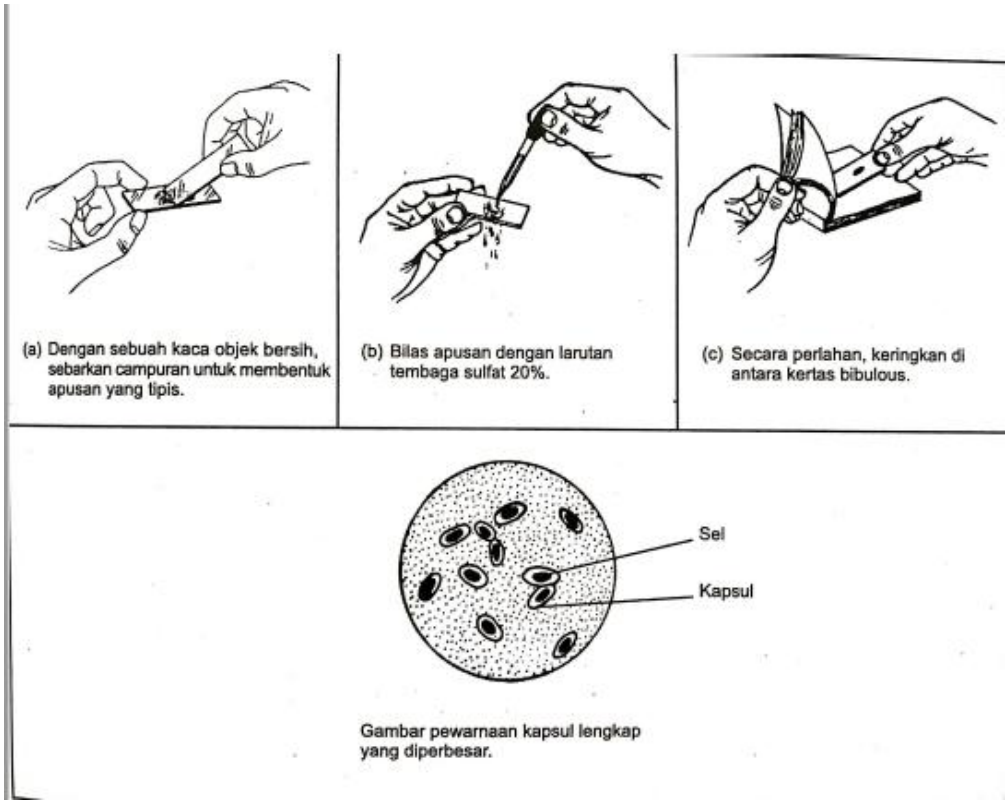
Reagent : - Gentian violet 0,5%
- Cupri sulfat 20%

Bahan : Sampel padat maupun cair dari kultur murni *Klebsiella* sp.

Prosedur :

1. Menuangi sediaan yang telah dilidah apikan 1 kali saja dengan pewarna Gentian violet 0,5% dan biarkan selama 1 – 5 menit.
2. Membuang pewarna dan melunturkan dengan Cupri sulfat 20% setetes demi setetes sampai pewarna tidak luntur lagi.
3. Memeriksa dibawah mikroskop dengan obyektif 100 x (oil imersi).

Catatan : Kapsul berwarna biru langit atau agak transparant sedangkan kuman berwarna violet.



Gambar 5. Pewarnaan Kapsul

Hasil pengamatan:

Nama kuman: Ukuran Kapsul Warna Kapsul Warna Sel

Nama kuman: Ukuran Kapsul Warna Kapsul Warna Sel

IX. PEMERIKSAAN ANGKA LEMPENG TOTAL (ALT)

TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah menyelesaikan percobaan ini Anda dapat:

1. Menghitung jumlah mikroba aerob mesofil yang terdapat dalam sampel
2. Menguji bahwa sampel yang diuji tidak boleh mengandung mikroba melebihi batas yang ditetapkan karena berbahaya bagi kesehatan manusia

PRINSIP

Perhitungan jumlah sel mikroba dapat dilakukan dengan berbagai macam cara, antara lain secara langsung dengan hitung mikroskopik (direct microscopic count) menggunakan hemasitometer, dan secara tidak langsung dengan hitung cawan (plete count).

Hitung mikroskopik merupakan metode yang cepat dan murah ,tetapi mempnyai beberapa kelemahan antara lain: sel-sel yang mati tidak dapat dibedakan dari sel hidup, sel-sel yang berukuran sngat kecil sulit dilihat sehingga kadang-kadang tidak terhitung.

Hitung cawan merupakan metode yang sensitive untuk menentukan jumlah sel mikroba. Prinsip metode hitung adalah jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada media agar, maka sel mikroba itu akan berbiak membentuk koloni yang dapat dilihat dan dihitung dengan mata telanjang, dan disebut dengan "colony forming unit" = cfu.

Metode hitungan cawan ada dua yeitu metode tuang (pour plate) dan metode permukaan (surface/spread plate). Perhitungan jumlah mikropba dianggap valid jika dalm satu cawan tumbuh koloni sebanyak 30-300cfu. Sehingga jika pertumbuhan mikroba terlalu padat, maka harus dilakukan pengenceran terlebih dahulu.

Angka Lempeng Total (ALT) adalah pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah sampel diinkubasi dalam perbenihan yang cocok selama 24-48 jam pada suhu 37°C (SNI, 2009). Uji ALT (Angka Lempeng Total) mengandung prinsip yaitu pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah cuplikan diinokulasikan pada lempeng agar dengan cara tuang dan diinkubasi pada suhu yang sesuai. Pengujian dilakukan secara duplo. Setelah inkubasi, dipilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 30-300 koloni. Jumlah koloni rata-rata dari kedua cawan dihitung lalu dikalikan dengan faktor pengenceranny a. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total (ALT) dalam tiap gram contoh bahan.

ALAT DAN BAHAN

Alat : Timbangan, Labu Erlenmeyer, Pipet ukur, Petri disk, Lampu spirtus,Dot karet (Bulb), colony counter, inkubator, tabung reaksi

Media dan Reagensia:
Plate Count Agar (PCA), Air garam (PZ steril) 0,85%

Bahan : sampel dari makanan dan minuman

PROSEDUR:

a. Penyiapan Sampel Uji

Kemasan jamu yang akan dibuka dibersihkan dengan kapas beralkohol 70% kemudian dibuka secara aseptis di dekat nyala api spiritus

b. **Persiapan dan Homogenasi Sampel**

Secara aseptis diambil sebanyak 10 ml sampel ke dalam labu ukur 100 ml, lalu ditambahkan 90 ml BPW dan dihomogenkan hingga diperoleh pengenceran 10-1

c. **Pembuatan media PCA (*Plate Count Agar*)** *(hitung dan lihat cara pembuatan media pada kemasan)*

d. **Pengenceran sampel untuk uji ALT**

Sebanyak 5 buah labu ukur 10 ml disiapkan, masing-masing telah diisi dengan 9 ml pengencer BPW. Sebanyak 1 ml pengenceran 10-1 dari hasil homogenisasi pada penyiapan sampel diambil dan dimasukkan ke dalam tabung pertama yang telah diisi 9 ml BPW hingga diperoleh pengenceran 10-2 (homogenisasi dengan vortex). Selanjutnya dibuat pengenceran hingga 10-5.

e. **Uji Angka Lempeng Total (ALT)**

Dari tiap pengenceran dipipet 1 ml suspensi ke dalam cawan petri steril secara duplo. Dalam setiap cawan petri dituangkan sebanyak 15 ml media PCA. Cawan petri digoyang dengan hati-hati agar sampel tersebar merata. Dilakukan pula uji kontrol untuk mengetahui sterilitas media dan pengencer. Uji sterilitas media dilakukan dengan cara menuangkan media PCA dalam cawanpetri dan biarkan memadat. Uji sterilitas pengencer dilakukan dengan cara menuangkan media PCA dan 1 ml pengencer BPW lalu dibiarkan memadat. Seluruh cawan petri diinkubasi terbalik pada suhu 350C selama 24 - 48 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung. Perhitungan Angka Lempeng total dalam 1 ml contoh dengan mengkalikan jumlah rata-rata koloni pada cawan dengan faktor pengenceran yang digunakan.

f. **Perhitungan Koloni**

1. **Dipilih** cawan petri **dari satu pengenceran** yang menunjukkan jumlah koloni antara **30-300 koloni**

2. Bila **salah satu** dari cawan petri menunjukkan **jumlah koloni ≤30 atau ≥300 → dihitung jumlah rata-rata koloni**, kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya
3. Bila cawan-cawan dari **dua tingkat pengenceran** yang berurutan menunjukkan **jumlah koloni antara 30-300→ dihitung jumlah koloni dari masing-masing tingkat pengenceran**, dikalikan dengan faktor pengencerannya
4. Bila hasil perhitungan pada tingkat **pengenceran yang lebih tinggi** diperoleh jumlah koloni rata-rata **≥2 kali** jumlah koloni rata-rata pengenceran dibawahnya, maka dipilih tingkat **pengenceran yang lebih rendah**
5. Bila hasil perhitungan pada tingkat **pengenceran lebih tinggi** diperoleh jumlah koloni rata-rata **≤2 kali** jumlah rata-rata pada pengenceran dibawahnya, maka dihitung dari **rata-rata jumlah koloni** kedua tingkat pengenceran tersebut.
6. Bila **tidak satupun koloni tumbuh** dalam cawan, maka Angka Lempeng Total **dinyatakan sebagai <1** dikalikan faktor pengenceran terendah.
7. Jika seluruh cawan menunjukkan **jumlah koloni ≥250**, dipilih cawan dari tingkat pengenceran tertinggi kemudian **dibagi menjadi beberapa sektor** (2,4, atau 8) dan dihitung jumlah koloni dari satu sektor
8. Jika jumlah koloni rata-rata dari **1/8 bagian cawan ≥200**, maka Angka Lempeng Total dinyatakan ≥ 200x8 dikalikan faktor pengenceran
9. Koloni spreader 1/4- 1/2 bagian cawan: Dihitung koloni yang tumbuh di luar daerah spreader
10. Koloni spreader 75% dari seluruh cawan: Dicatat sebagai 'spr'
    Untuk keadaan ini harus dicari penyebabnya dan diperbaiki cara kerjanya (pengujian diulang)
11. Koloni spreader tipe rantai: Tiap 1 deret koloni yang terpisah dihitung sebagai 1 koloni
12. Spreader terdiri dari beberapa rantai : Tiap rantai dihitung sebagai 1 koloni

Catatan: Penghitungan dan pencatatan hasil ditulis dalam dua angka;

Sebagai contoh :

523 x 10^3 dibulatkan menjadi 52 x 10^4

83,6 x 10^3 dibulatkan menjadi 84 x 10^3

Angka berikutnya dibulatkan ke bawah bila < 5 dan dibulatkan ke atas apabila > 5, Hasil dinyatakan dalam tiap gram atau tiap mL sampel.

Hasil Pengamatan:

Tabel 9.1 Perhitungan Koloni pada Plate

Plate nomor	Pengenceran	Jumlah Koloni	Angka Kuman/ gram-cc/mL

X. UJI KUALITAS AIR BERDASARKAN NILAI MPN (*MOST PROBABLE NUMBER*) *Coliform*

TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah menyelesaikan percobaan ini Anda dapat:

1. Menentukan adanya bakteri *Coliform* dalam sampel air
2. Menentukan suatu angka indeks yang menunjukkan jumlah paling mungkin dari organisme-organisme yang ada dalam sampel analisis.

PRINSIP

Kelompok bakteri coliform sangat mudah menyebar hampir pada semua tempat. Tidak terkecuali dalam air. Umumnya bakteri coliform ini banyak terdapat pada lingkungan air, sebab feses merupakan salah satu bahan pencemaran yang banyak megandung kelompok bakteri ini.

Coliform adalah kelompok bakteri yang mudah menyebar dan banyak terdapat di air dan dapat menyebabkan pencemaran pada air tersebut. Kualitas air ditentukan oleh banyak air kotor salah satunya adalah keberadaan bakteri coliform. Pemerikasaan kualitas air nilai MPN dari coliform dapat dilakukan dengan 3 tahap pengujian yaitu, uji pendugaan, uji penegasan dan uji penguat (lengkap).

Adanya bakteri coliform menentukan kualitas air, umumnya dinyatakan dengan nilai MPN coliform. Makin besar nilai MPN melampaui nilai standart maka kualitas air sangat rendah, sebaliknya makin kecil nilai MPN dari standart minimal maka kualitas semakin baik.

ALAT DAN BAHAN

Alat : Tabung reaksi, rak tabung uji, pembakar spirtus, pipet ukur 10 mL, Pipet ukur 1 mL, pipet 0,1 mL, bulpen, kaki tiga+kasa, cawan Petri

Bahan: Media Lactose Broth, Media Brilliant Green Lactase Bilebroth (BGLB), Media Eosin Methelin Blue (EMB), dan Sampel air yang diuji

PROSEDUR

a. Uji pendugaan

1) Siapkan 9 tabung kultur yang masing-masing berisi 10 ml media cair kaldu lactose steril yang sudah dilengkapi dengan tabung durham. Aturlah letaknya pada rak tabung dan masing-masing beri kode (A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3).

2) Tuangkan air sampel menggunakan pipet steril masing-masing sebanyak 10 ml kedalam tabung kultur yang berkode A1, A2, A3.

3) Tuangkan air sampel menggunakan pipet steril masing-masing sebanyak 1 ml kedalam tabung kultur yang berkode B1, B2, B3

4) Tuangkan air sampel menggunakan pipet steril masing-masing sebanyak 0,1 ml kedalam tabung kultur yang berkode

5) Inokulasikan 9 tabung kultur yang sudah diperlakukan pada suhu 37oC selama 1 x 24 jam.

Amati adanya gelembung udara di dalam tabung durham. Catatlah kode tabung yang positif mengeluarkan gas. Mikroba penghasil gas yang tumbuh pada tabung adalah kelompok mikroba yang mampu memfermentasikan laktosa.

b. **Uji penegasan**

1) Siapkan tabung kultur yang masing-masing berisi 10 ml media cair BGLB steril yang sudah dilengkapi dengan tabung durham. Aturlah letaknya pada rak tabung dan masing-masing beri kode misalnya : (A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3), sehiungga jumlahnya sama dengan jumlah tabung yang positif saja.

2) Tuangkan air sample yang sudah diinkubasikan dalam media kultur laktosa menggunakan pipet steril masing-masing sebanyak 1 ml ke dalam tabung yang positif.

3) Inkubasikan tabung kultur yang sudah diperlukan pada suhu 45oC selama 1 x 24 jam.

4) Amati adanya gelembung udarea di dalam tabung durham. Catatlah kode tabung yang positif mengeluarkan gas. Mikroba penghasil gas yang tumbuh padatabung adlah kelompok mikroba yang mampu memfermentasikan laktosa dan tahan terhadap suhu tinggi 45oC mikroba ini disebut kelompok bakteri coliform fekal.

c. **Uji penguat**

Uji penguat dapat dilakukan dengan mendeteksi adanya bakteri E. coli, caranya ialah :

1) Inokulasi sample perlakuaan dari tabung yang positif pada uji penegasan sebanyak satu ose kepermukkaan media EMB secara zig-zag. Inkuh\basi pada suhu 37oC selama 1 x 24 jam.

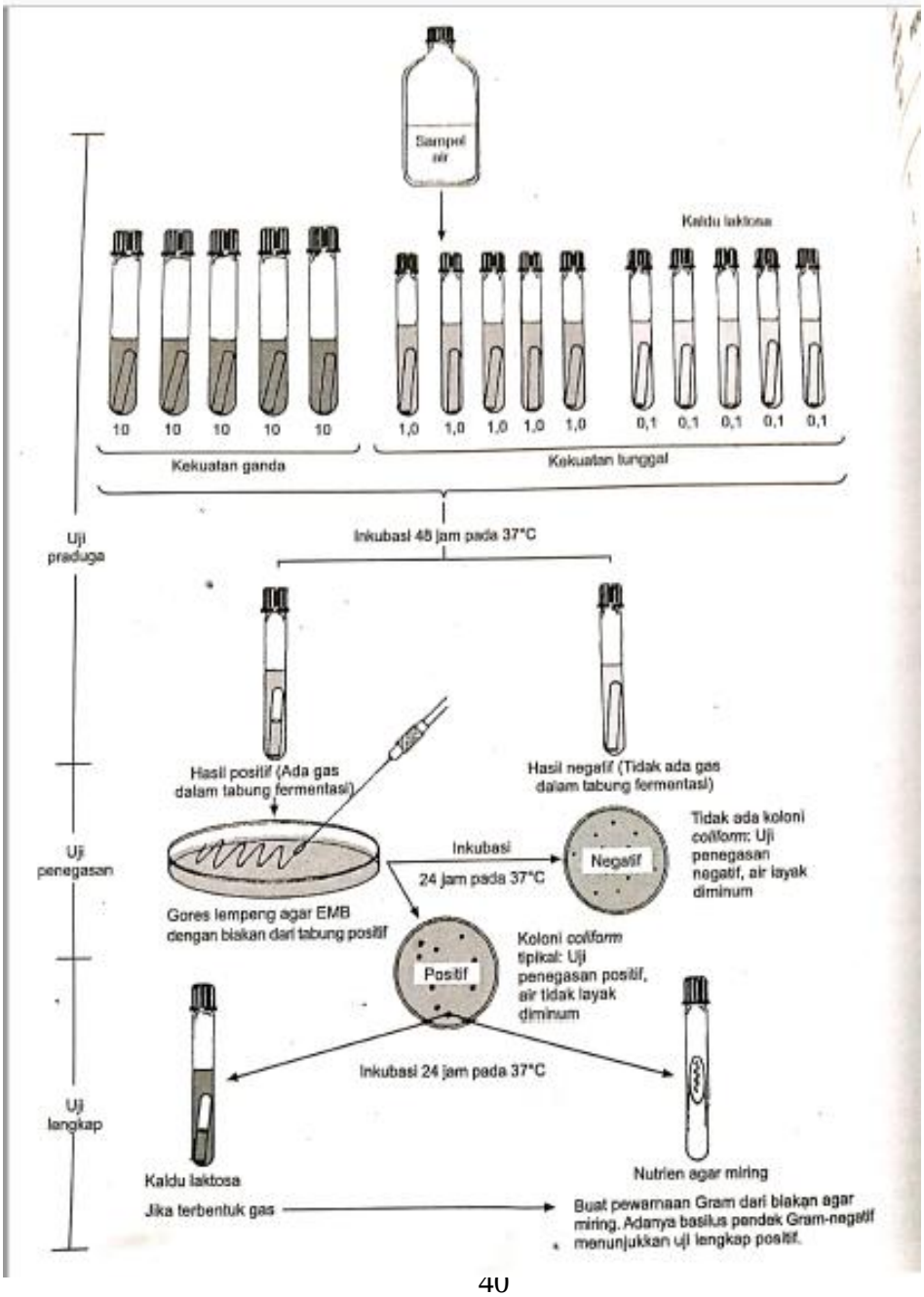
2) Amati pertumbuhan koloni pada media EMB koloni yang menampakkan adanya kilau metalik adlah koloni bakteri E. coli

3) Selanjutnya dapat dipastikan lagi dengan cara mengamati inokulum dari koloni tersebut secara langsung dengan menggunakan mikroskop

4) Buatlah sediaan yang diwarnai secara gram, kemudian amati di bawah mikroskop. Bakteri E. coli akan memperlihatkan sebagian bentuk batang, gram negative.

5) Setelah semua pengujian selesai, tentukanlah nilaiMPN Coliformnya berdasarkan table MPN padalampiran. Nilai MPN ditentukan berdasarkan jumlah tabung yang positif dari perlakuan,dan dihitung = MPNtabelx 1/ pengenceran tengah.

Untuk memperjelas perlakuan dapat diikuti gambar berikut :



Gambar 6. Metode uji *Coliform* Kualitas Air

Hasil Pengamatan:

DAFTAR PUSTAKA

Cappucino, James G. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: EGC

Jawetz, E., dkk. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi 20. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran (EGC). Hal.608 – 637

Kuswiyanto. 2014. Buku Ajar Bakteriologi 1, 2, dan 3 analis kesehatan. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran (EGC).

Soemarno. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik*. Yogyakarta: Akademi Analis Kesehatan. DEPKES RI

Jurnal- jurnal terkait Mikrobiologi

DAFTAR PUSTAKA

Annaissie, E.J., *et al*., 2009. *Clinical Mycology Second Edition*. USA: Elsevier Inc.

Askrening, Reni Yunus.2017.Analisis Bakteri Coliform Pada Air Minum Isi Ulang di Wilayah Poasia Kota Kendari. *Jurnal Teknologi Kesehatan*. Vol.13, No.2, Hal.71-76

Bulele, T., Fredine E.S.Rares, dan John Porotu'o.2019. "Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram Pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado". *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. Vol 7, No.1.Hal.31-34

Hardy, S.P. 2003. *Human Microbiology. USA:* Taylor & Francis inc.

Jawetz, E., dkk. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi 20. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran (EGC). Hal.608 – 637

Kuswiyanto. 2014. Buku Ajar Bakteriologi 1 Analis kesehatan. Jakarta: Penerbit buku

Kedokteran (EGC).

Muthiah, H., Warta Dewi, dan Indarti Sudjarwo. 2017."Pemanfaatan Ekstrak Etil Asetat Buah Merah Sebagai Zat Warna Primer Pada Teknik Pengecatan Negatif Kapsul Bakteri". *J.Ked Gi Unpad*. 29(1); 35-40

Mursalim. 2018. Pemeriksaan Angka Lempeng Total Bakteri Pada Minuman Sari Kedelai Yang Diperjualbelikan Di Kecamatan Manggala Makassar. *Jurnal Media Analis Kesehatan*. Vol.1, Ed.1, Hal.56-61

Mursalim, Siti Hadijah, Hasnawati. 2018. Analisis MPN (*Most Probable Number*) Coliform Pada Es Puter yang Beredar di Kabupaten Gowa dan Makassar. *Jurnal Media Analis Kesehatan*. Vol.9, No.2, Hal. 123-129

Puspandari, Nelly dan Ani Isnawati. 2015.Deskripsi Hasil Uji Angka Lempeng Total (ALT) Pada Beberapa Susu Formula Bayi. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol.5, No.2. Hal.106-112

Putri, Aprilia M. dan Pramudya Kurnia. 2018. Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform dan Total Mikroba dalam Es Dung-dung di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Media Gizi Indonesia*. Vol.13, No.1, Hal. 41-48