

PRAKTIKUM KULTUR JARINGAN

Judul : Kultur Jaringan

Tanggal : 17 November 2011

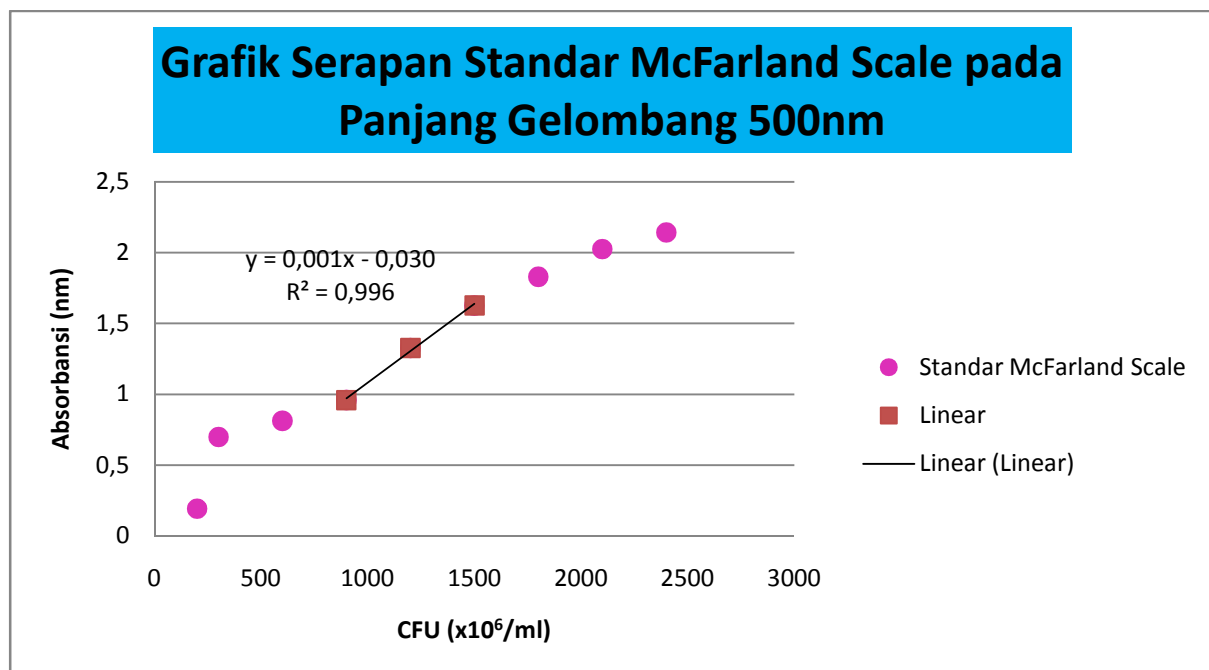
Tujuan : 1. Mengetahui teknik McFarland Scale, absorbansi spektrum, memperkirakan konsentrasi sel (CFU) melalui kekeruhannya (alat spektrofotometer)
2. Mengetahui dan mampu melakukan teknik isolasi bakteri pada media agar
3. Mengetahui teknik pewarnaan sel yang sederhana
4. Mengetahui cara menggunakan alat mikroskop dengan benar

Praktikan : Ernawati dan Saharnauli J. Verawaty S.

Tabel 2. Hasil Serapan Standar-Standar McFarland Scale

Scale	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8
CFU($\times 10^6$ /mL)	<300	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400
A	0,191	0,698	0,812	0,959	1,326	1,626	1,83	2,025	2,143

Grafik. Hasil Serapan Standar-Standar McFarland Scale



Tabel 3. Hasil Serapan Doubling Delution Preparat Ragi ($\lambda=500\text{nm}$)

Detail Preparat Ragi : Jumlah ragi : 2 gr

Konsentrasi glukosa (%) : 6

Temperatur yang ditentukan : 40°C

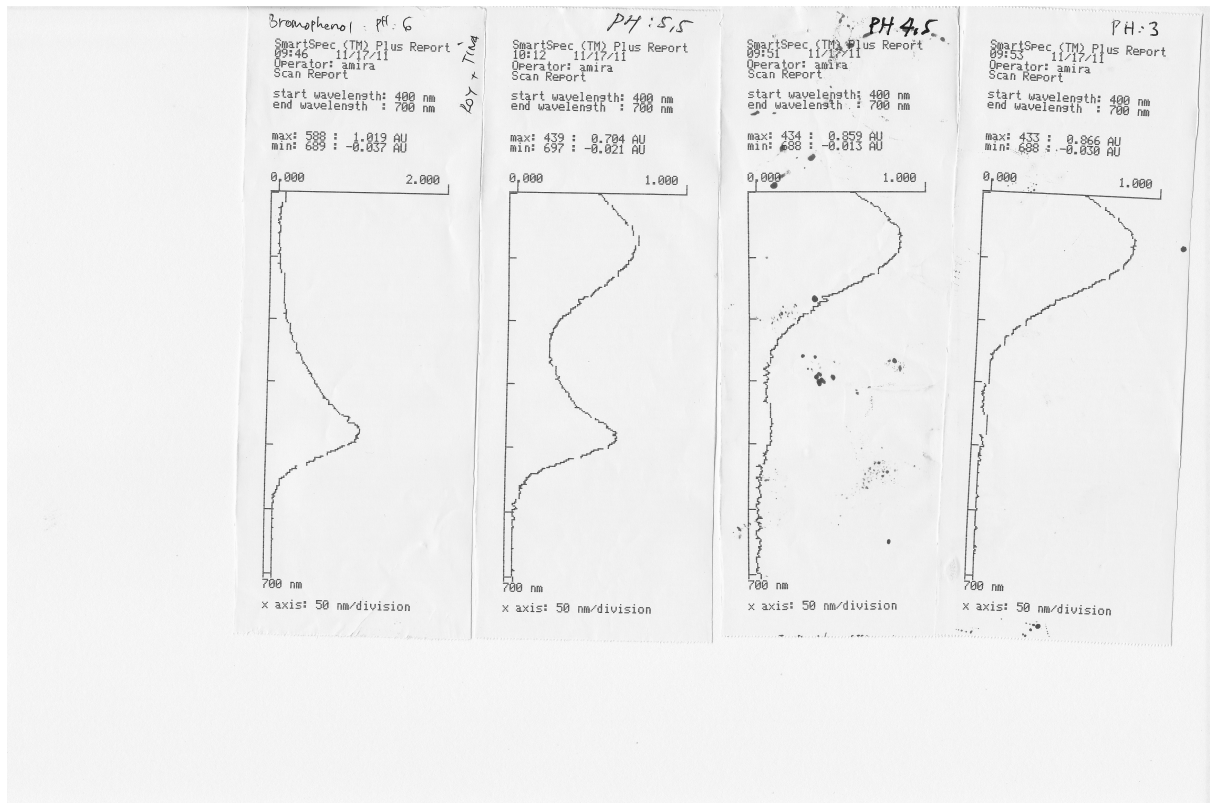
Waktu sejak fermentasi dimulai : 09.25

Faktor	asli	2	4	8	16	32	64	128	256	512
A				2,924	2,17	1,18	0,829	0,504	0,262	0,186

Kesimpulan :

- ❖ Berdasarkan Grafik Standar McFarland Scale di atas, maka dapat ditentukan bahwa konsentrasi preparat ragi (jumlah sel) pada faktor pengenceran 128 ($A=0,504$) adalah :
Dengan menarik garis regresi diperoleh rumus sebagai berikut :
 $Y = 0,001x - 0,03$ → dimana y = absorbansi (pada faktor 128)
 $X = Y + 0,03/0,001$
 $X = 0,504 + 0,03/0,001$
 $X = 507$ → berarti pada faktor 128 kadar ragi yang terkandung di dalamnya sekitar :
 507×10^6 CFU/ml
- ❖ Kegunaan McFarland Scale : dapat digunakan sebagai standard untuk menentukan perkiraan konsentrasi sel pada suspensi atau larutan. Hasil perkiraan konsentrasinya dalam satuan CFU/mL, dan standar ini digunakan untuk mengukur konsentrasi bakteri gram negatif seperti E.coli. Tetapi penggunaannya menjadi kurang akurat bila digunakan pada jenis bakteri lain yang berbeda ukuran dan berat, demikian juga bila digunakan pada jamur dan ragi. Perlu dilakukan kalibrasi dan validasi lagi agar diperoleh hasil yang benar.

Hasil Absorbance Spectrum dari seluruh kondisi pH Bromophenol Blue

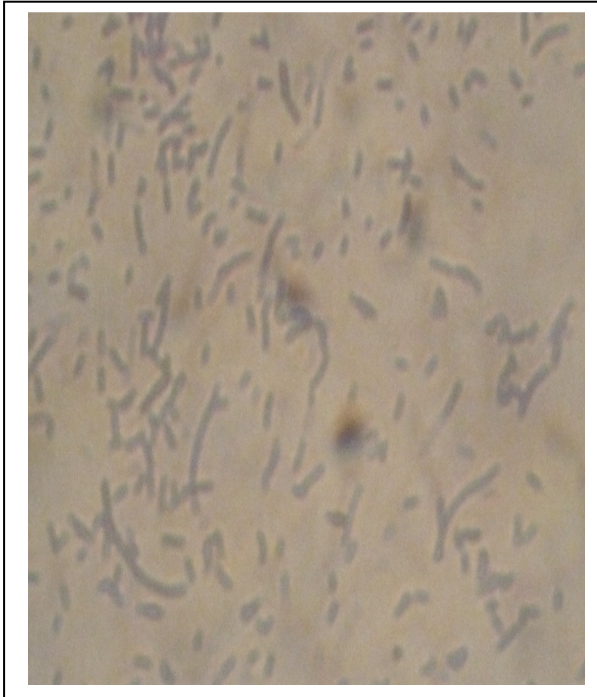


Kesimpulan :

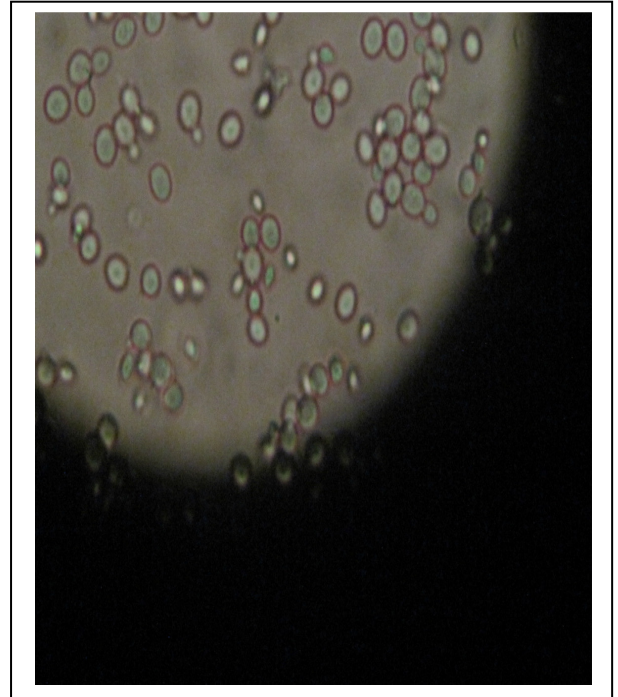
1. Hasil absorbansi maksimal masing-masing sediaan pH terdapat pada panjang gelombang yang berbeda-beda. Bromophenol blue merupakan larutan berwarna yang digunakan sebagai indikator titrasi asam dan basa dalam menentukan pH dari suatu larutan. Jadi, dalam hal ini hasil pengukuran absorbansi maximal pada panjang gelombang tertentu ini tidak dipengaruhi oleh pH larutan, melainkan oleh perubahan warna dari larutan itu sendiri.
2. Range spektrum warna yang dapat terbaca adalah pada panjang gelombang 400nm-700nm

Gambar Sel bakteri dan Sel Ragi

Sel Bakteri (batang/rod)



Sel Ragi



Catatan :

Teknik Kultur bakteri :

1. Hasil kultur sangat bergantung pada metode pembuatannya, dibutuhkan tempat kerja yang benar-benar steril, cara pembuatan yang benar-benar hati-hati, tidak terlalu tebal, sehingga hasil koloni yang ditanam tidak terlalu padat, ose yang digunakan tidak boleh terlalu panas dan harus steril, diperlukan lingkungan tempat tumbuh dengan suhu yang optimal untuk pertumbuhan bakteri
2. Setiap bakteri memiliki karakternya sendiri-sendiri, ada yang dapat tumbuh subur pada media agar biasa, ada yang membutuhkan media agar darah.

Ragi :

1. CO₂ yang dihasilkan dari fermentasi yang dilakukan oleh ragi terhadap glukosa dibuktikan dengan perubahan warna bromophenol blue menjadi lebih kemerahan, hal ini terjadi karena larutan berubah menjadi asam akibat penambahan CO₂ terus menerus.
2. Dari hasil praktikum seluruh kelompok menunjukkan bahwa 2 hal yang cukup berpengaruh pada hasil perubahan warna *bromophenol blue*, yaitu suhu yang digunakan dan perbandingan jumlah ragi dan sukrosa. Bila suhu yang digunakan semakin rendah maka hasil CO₂ nya akan lebih sedikit sehingga perubahan warnanya menjadi lebih lama. Bila perbandingan ragi dan sukrosa 1:1, atau dengan kata lain sama banyak, maka hasil perubahan warnanya juga membutuhkan waktu yang lebih lama

Saran :

1. Pada praktikum berikutnya mungkin bisa digunakan sediaan langsung seperti dahak pasien penderita TBC, atau kotoran dari pasien otitis media untuk dibuat kultur bakteri
2. Menggunakan pH basa juga yang diukur dengan spektrofotometer, kemudian dengan menggunakan larutan asam-basa dibuat buffer yang selanjutnya ditentukan pH nya dengan menggunakan hasil spektrofotometri. Dengan cara ini coba dibandingkan hasilnya bila dengan menggunakan pH meter, apakah hasilnya sesuai atau tidak.