

PRAKTIKUM KULTUR JARINGAN
BM – 506
Mara Imam Taufiq Siregar – Sukaisi

Tanggal : 17 Nopember 2011

- Tujuan** :
1. Mahasiswa mengenal media dan sediaan kultur
 2. Melakukan pewarnaan sel dengan tepat
 3. Mampu melakukan teknik isolasi dan inokulasi sediaan media dengan yang tepat
 4. Mampu menggunakan mikroskop dengan benar
 5. Menilai produksi CO₂ dengan perubahan warna dengan pewarnaan *bromophenol blue*
 6. Menilai perubahan ragi dengan *McFarland Scale*, absorbance spectrum

Tabel2. Hasil Serapan Standar-Standar *M. Farland Scale*

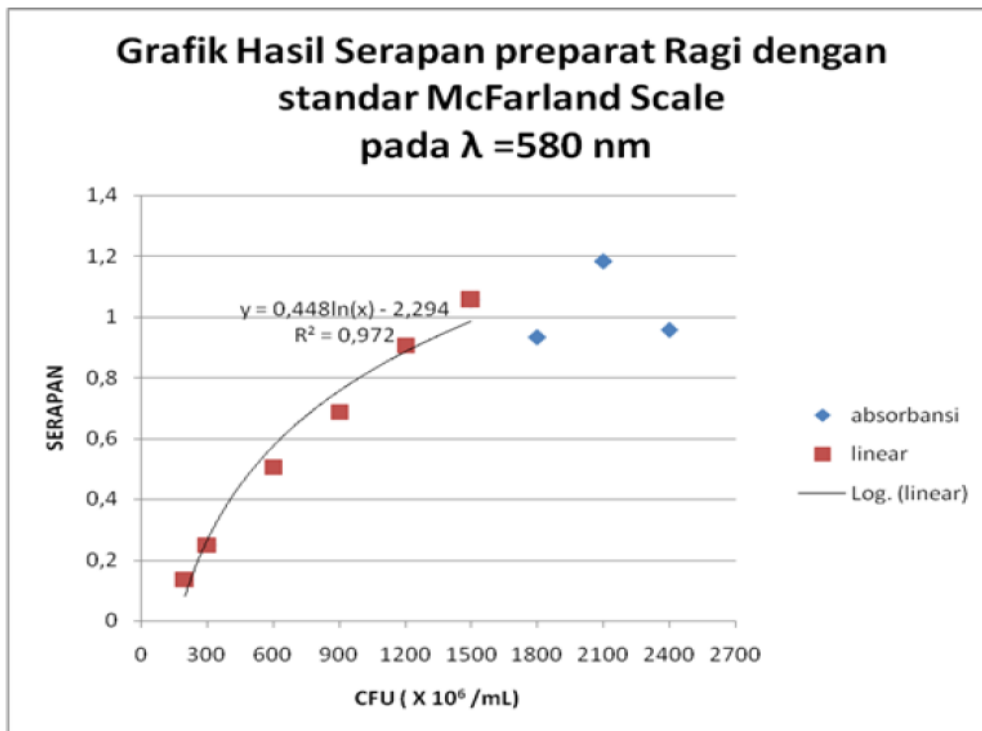
Mc Farland Scale	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8
CFU (x10 ⁶ /mL)	<300	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400
Absorbance	0.096	0.236	0.231	0.555	0.407	0.187	0.350	0.667	0.408

Grafik Hasil Serapan Standar-Standar *Mc Farland Scale*

Karena hasil yang kami peroleh kurang baik maka kami menggunakan hasil data kelompok lain yang lebih baik dalam pembuatan grafik ini. Datanya adalah sebagai berikut:

Mc Farland Scale	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8
CFU (x10 ⁶ /mL)	<300	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400
Absorbance	0.137	0.250	0.507	0.688	0.907	1.055	0.933	1.182	0.957

Grafik.



Tabel3. Hasil Serapan *Doubling Delution* Preparat Ragi ($\lambda = 600\text{nm}$)

Preparat yang kami gunakan :

- Jumlah ragi : 3.5gr
- Konsentrasi glukosa : 9.5gr
- Temperatur : 45°C
- Waktu mulai fermentasi : 12.47

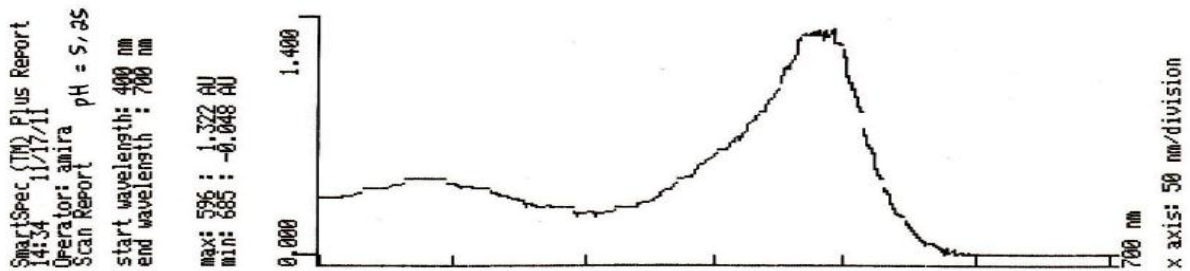
Faktor	Asli	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Absorbance	-	-	-	-	2.135	1.499	0.874	0.369	0.092	0.186

Catatan/Kesimpulan 1 :

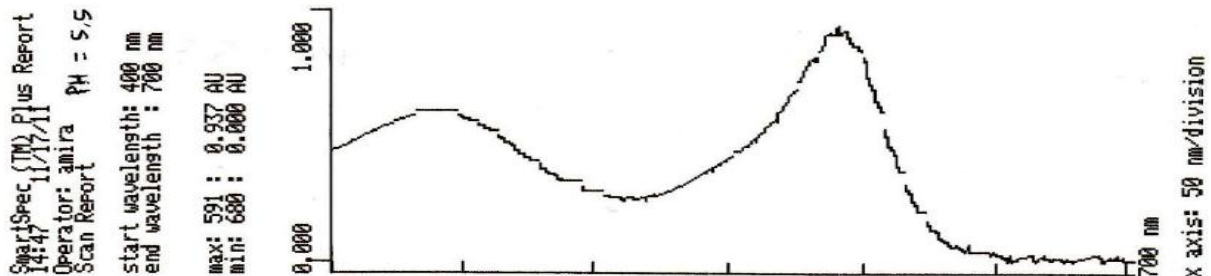
1. Dari grafik Standar *Mc Farland Scale* di atas, maka didapat bahwa konsentrasi preparat ragi (jumlah sel) pada faktor pengenceran 128 (Absorbansi = 0.369) adalah:
 $Y = 0.448\ln(X) - 2.294$
 $\ln(X) = (Y + 2.294) / 0.448$
 $\ln(X) = (0.369 + 2.294) / 0.448$
 $\ln(X) = 5.944$
 $X = 1.006 \times 10^6 / \text{ml}$
 Artinya pada faktor pengenceran 128 kadar ragi yang terkandung didalamnya kurang lebih : $1.006 \times 10^6 / \text{ml}$
2. Prinsipnya *Mc. Farland Scale* digunakan untuk memperkirakan konsentrasi sel bakteri gram negatif (misalnya E. Coli) berdasarkan kekeruhannya. Dimana skala ini dipakai sebagai standar untuk mengukur konsentrasi CFU (*colony forming units*) dalam satuan $\times 10^6 / \text{ml}$. Jadi sebenarnya skala pengukuran ini kurang tepat digunakan

pada organisme bakteri lain yang mempunyai ukuran dan berat yang berbeda. Demikian juga pada pengukuran konsentrasi sel ragi.

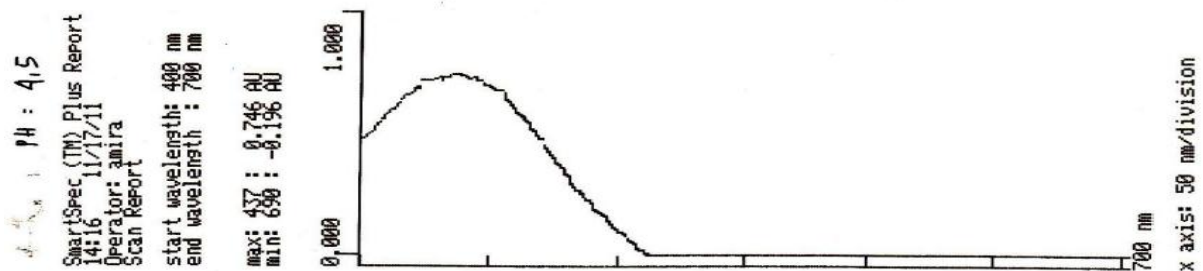
Hasil Print Absorbance Spectrum Bromophenol Blue pada pH yang berbeda – beda



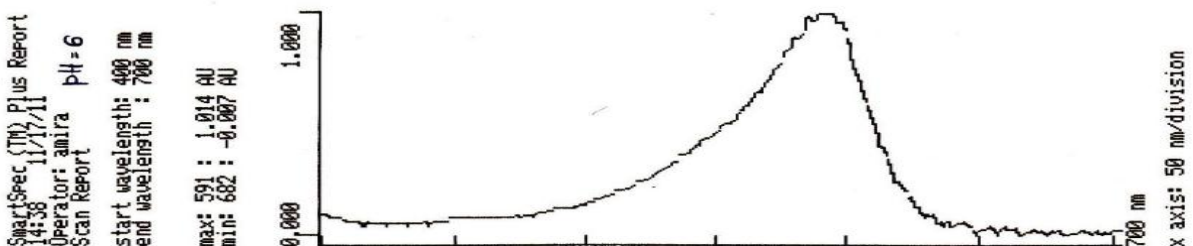
Absorbance spectrum bromophenol blue pada pH = 5.25 dengan $\lambda = 400 - 700\text{nm}$ diperoleh nilai maksimal pada $\lambda = 596\text{nm}$ dengan absorbance = 1.322 AU. Dan nilai minimal pada $\lambda = 685\text{nm}$ dengan absorbance = -0.048 AU



Absorbance spectrum bromophenol blue pada pH = 5.5 dengan $\lambda = 400 - 700\text{nm}$ diperoleh nilai maksimal pada $\lambda = 591\text{nm}$ dengan absorbance = 0.937 AU. Dan nilai minimal pada $\lambda = 680\text{nm}$ dengan absorbance = 0.000 AU



Absorbance spectrum bromophenol blue pada pH = 4.5 dengan $\lambda = 400 - 700\text{nm}$ diperoleh nilai maksimal pada $\lambda = 437\text{nm}$ dengan absorbance = 0.746 AU. Dan nilai minimal pada $\lambda = 690\text{nm}$ dengan absorbance = -0.196 AU



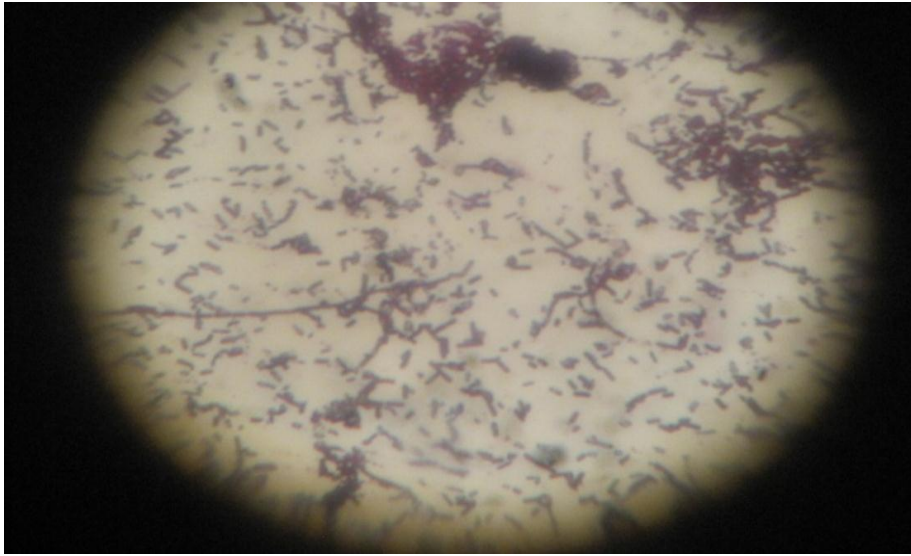
Absorbance spectrum bromophenol blue pada pH = 6 dengan $\lambda = 400 - 700\text{nm}$ diperoleh nilai maksimal pada $\lambda = 591\text{nm}$ dengan absorbance = 1.014 AU. Dan nilai minimal pada $\lambda = 682\text{nm}$ dengan absorbance = -0.007 AU

Catatan/Kesimpulan 2:

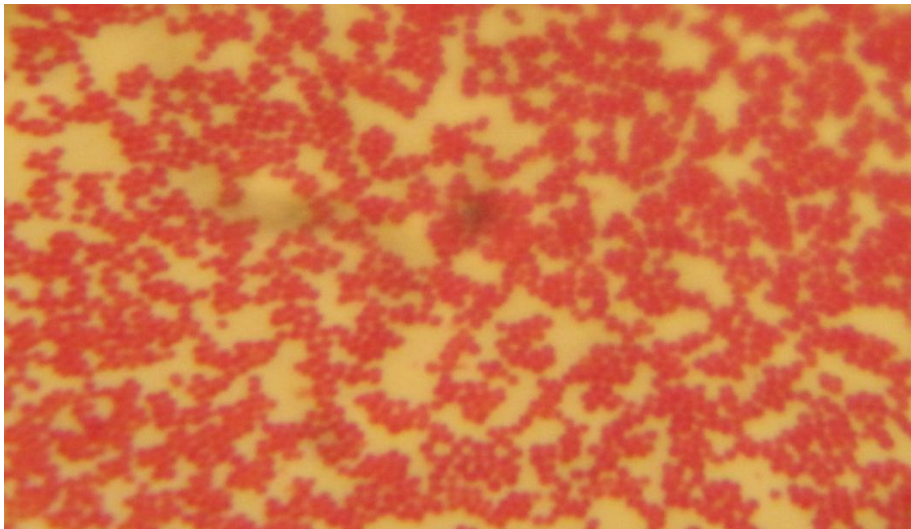
1. Dari keempat grafik diatas didapati bahwa nilai pH yang berbeda pada dapat mengakibatkan nilai absorbansi yang berbeda – beda walaupun larutannya adalah sama, yaitu bromophenol blue. Dalam hal ini mungkin dikarenakan perbedaan warna larutan yang dihasilkan pada nilai pH yang berbeda – beda.
2. Pada range panjang gelombang tertentu setiap larutan mempunyai nilai absorbansi maksimal dan minimal dalam pemeriksaan spektrofotometrinya.
3. Pada hasil grafik absorbance spectrum bromophenol blue 1, 2 kita dapati keistimewaan dimana terdapat 2 puncak absorbansi yang seperti seperti ombak pada pengukuran (grafik 1 dipanjang gelombang (λ)= ± 440 dan 591 . Grafik 2 dipanjang gelombang (λ)= ± 445 dan 596). Hal ini mungkin dikarenakan warna yang unik yang ditampilkan oleh larutan bromophenol blue pada pH = 5.25 dan 5.5 yang menimbulkan dua puncak absorbansi pada pembacaannya.

Gambar sel Bakteri dan Ragi

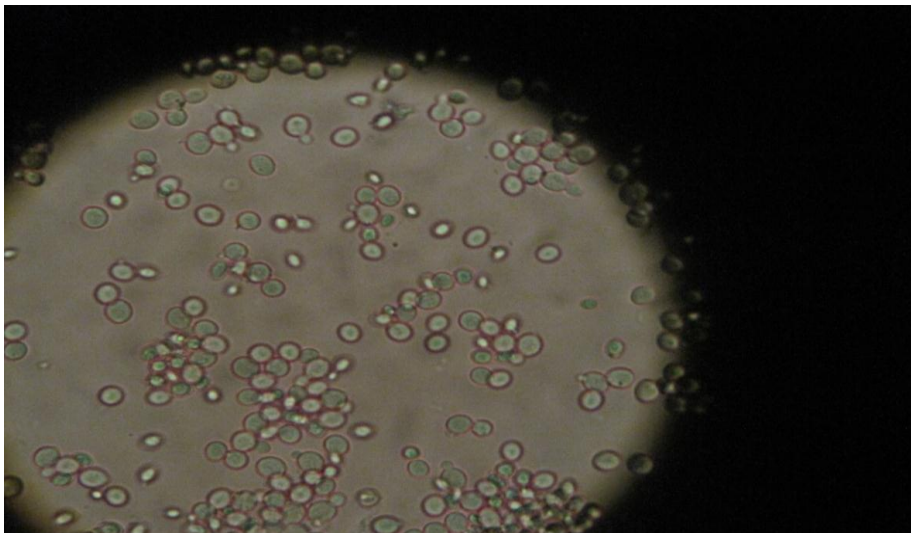
Gambar 1. Sel Bakteri (Batang) dari apusan sputum dengan pewarnaan pada pembesaran mikroskop 10x



Gambar 2. Sel Bakteri (kokus) berasal dari air kran laboratorium terpadu, dengan pembesaran mikroskop 40x



Gambar 3. Sel Ragi pada pembesaran 40x



Catatan/Kesimpulan 3:

Teknik kultur:

1. Setiap bakteri berbeda-beda dalam hal media pembiakannya, kebanyakan bisa dibiakkan dalam media nutrient agar, tapi tak jarang pula yang harus dibiakkan pada media yang spesifik contohnya media kristal violet untuk bakteri gram negatif saja dan akan menghambat bakteri gram positif dan lain-lain.
2. Dalam membiakkan bakteri sangat bergantung kepada tempat dan tata cara yang baik, ; harus diruang/tempat pengkulturan yang steril, cara penghapusan yang benar dan hati-hati yaitu tidak terlalu tebal sehingga menyebabkan menumpuk atau terlalu tipis sehingga bakteri yang dihasil sedikit atau bahkan tidak ada, praktikan harus memakai sarung tangan agar tidak terdapat kontaminan, ose yang digunakan harus disterilkan terlebih dahulu dengan pemanasan, teknik penghapusan yang baik, diperlukan suhu yang sesuai/optimal agar bakteri tumbuh dengan baik dan subur, dan lain – lain.

Ragi:

1. Perubahan warna pada bromophenol blue disebabkan oleh CO₂ yang dihasilkan dari fermentasi sukrosa oleh ragi. CO₂ menyebabkan perubahan pH pada bromophenol blue, semakin banyak CO₂ yang dihasilkan maka semakin asam keadaan bromophenol blue dan akan merubah warnanya dari biru menjadi violet hingga merah/kuning.
2. Dari hasil seluruh kelompok praktikum yang kami amati didapati bahwa: semakin banyak jumlah sukrosa dan ragi yang dipakai maka akan semakin banyak CO₂ yang dihasilkan dan ini akan mempercepat perubahan warna pada bromophenol blue, semakin tinggi suhu (sampai batas yang optimal bagi kerja ragi) akan semakin cepat proses fermentasi berlangsung dan semakin cepat pula CO₂ dihasilkan, semakin lama waktu yang digunakan akan semakin banyak CO₂ yang dihasilkan dan akan semakin merubah pH bromophenol blue ke arah asam.

Saran :

1. Agar kesimpulan menjadi lebih baik tentang apakah **perbedaan temperatur** memang mempengaruhi kecepatan fermentasi dan menghasilkan CO₂ pada Ragi, sebaiknya setiap kelompok melakukan percobaan dengan kadar ragi dan sukrosa yang sama, cuma temperaturnya saja yang berbeda – beda. Begitu juga halnya dengan menarik kesimpulan tentang pengaruh **jumlah ragi**, maka sebaiknya temperatur dan jumlah sukrosa setiap kelompok sama, Cuma jumlah raginya yang dibeda-bedakan.
2. Pada praktikum teknik isolasi dan kultur agar digunakan lebih banyak lagi jenis bakteri yang dibiakkan dengan variasi medianya masing – masing yang berbeda-

beda pula, agar praktikan mendapat pengetahuan dan dan pengalaman baru.
Contohnya: mencoba mengkultur dahak penderita TBC untuk mendapatkan hasil kultur kuman *M. tuberculosis*, dll.