

ARMIN ARIEF

Himpunan Beberapa Kegiatan

PRAKTIKUM BIOLOGI

TAMBAH PERPUSTAKAAN IKIP PADANG	
DITERIMA TGL.	13 Juli '98
SUMBER / HARGA	H /
KOLEKSI	K
NO. INVENTARIS	649 / K / 98 h1 / 2
KLASIFIKASI	584.099 9 Ami h1



FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN PADANG
1995

MILIK ILEF PERPUSTAKAAN
IKIP PADANG

KATA PENGANTAR

Buku dengan judul Himpunan Beberapa Kegiatan PRAKTIKUM BIOLOGI adalah edisi pertama, disusun untuk mereka yang berminat mengembangkan pengajaran Biologi di sekolah, terutama di SMTP, SMTA dan pada tingkat dasar Jurusan yang relevan di Perguruan Tinggi.

Sebagai suatu himpunan, sudah barang tentu buku ini baru berupa koleksi praktikum yang mungkin dapat dikerjakan di sekolah-sekolah. Dan ini tentu tergantung pula kepada fasilitas prasarana dan sarana yang tersedia di sekolah tersebut.

Buku ini belum menjangkau sistematika keilmuan dalam bidang biologi maupun menurut kurikulum yang berjalan di sekolah. Banyak kegiatan yang tercantum dalam buku ini masih tercampur aduk; apakah kegiatan itu dalam bidang mikrobiologi, parasitologi, anatomi, botani, zoologi, dan sebagainya.

Mudah-mudahan dengan adanya buku ini akan merangsang sejawat lain untuk menyusun buku yang lebih baik, atau memberikan masukan berupa umpan balik kepada penyusun untuk memperbaiki buku ini pada edisi berikutnya. Semua saran dan kritik membangun dari manapun datangnya akan diterima dengan senang hati.

Mudah-mudahan buku ini ada manfaatnya.

Padang, Nopember 1995
Penyusun.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
1. Petunjuk Umum	1
2. Pengenalan Alat.....	2
3. Menggunakan Mikroskop	4
4. Campuran dan Larutan	10
5. Biokimia: Beberapa Tes Makanan	15
6. Morfologi Bakteri dan Fungi Mikroskopik.....	22
7. Pewarnaan dan Beberapa Teknik Pewarnaan.....	25
8. M e d i u m (a)	33
9. Mikroba Air, Mikroba Susu dan Mikroba Udara	39
10. Pemeriksaan Bakteri Coli dan Beberapa Percobaan ...	43
11. Amoeba proteus dan Paramecium	47
12. Lingkungan, Suhu, dan Bahan Kimia	50
13. Pemeriksaan Telur Cacing Usus	54
14. Hematologi.....	58
15. Daftar Pustaka	64
16. Lampiran	65

1. PETUNJUK UMUM

1. Untuk keamanan dan keselamatan bekerja dalam laboratorium, Anda perlu menyiapkan kelengkapan praktikum, seperti baju laboratorium dan lain sebagainya. Taatilah petunjuk-petunjuk yang diberikan oleh pembimbing praktikum Anda.
2. Sebelum memulai pekerjaan, Anda perlu mempelajarinya lebih seksama apa-apa yang akan dilakukan. Rencanakanlah dengan baik, kalau perlu Anda membuat skema dan urutan kerja; sehingga Anda dapat bekerja dengan tepat, cermat, dan menyelesaikan pada waktunya.
3. Siapkanlah peralatan dengan baik; dan teliti apakah alat-alat tersebut sudah lengkap, tidak rusak dan memang sesuai dengan rencana yang akan Anda lakukan. Demikian juga dengan bahan-bahan kimia yang akan dipakai dalam bekerja.
4. Praktikum biologi, khususnya mikrobiologi menghendaki kondisi bersih, rapi dan suci hama (sterilitas) terhadap hal yang tidak diperlukan. Keadaan yang tidak steril akan berpengaruh terhadap pengamatan atau hasil kerja.
5. Jangan makan-makan, minum, atau merokok dalam ruang kerja; dan juga jangan memasukkan atau menggigit-gigit benda (kertas, potlot, dan sebagainya) selagi berada dalam ruang praktikum.
6. Apabila ada kecelakaan dalam bekerja, segera Anda melapor kepada pembimbing praktikum Anda.
7. Bekerjalah dengan baik, sabar, dan teliti; serta hindari kebiasaan-kebiasaan yang kurang baik (main-main, bersenda gurau, suara yang keras, dan lain-lain) dalam bekerja.
8. Kebersihan tempat bekerja (ruangan, meja praktikum, peralatan, dan lain-lain) sebelum dan sesudah praktikum perlu Anda jaga. Cucilah bersih-bersih tangan Anda sebelum dan sesudah bekerja dengan air dan sabun.

2. PENGENALAN ALAT

Untuk kegiatan praktikum di laboratorium biologi, diperlukan sejumlah alat misalnya pada praktikum mikrobiologi, diantaranya dibutuhkan alat seperti tertera di bawah ini:

Alat-alat

- Alat pelubang gabus (cork borer), 0,5-1,5 cm
- Alat pengasah pelubang gabus (sharpener for cork borer)
- Alat penghitung tally (tally counter)
- Alat penghitung koloni kuman (colony counter)
- Alat penghancur/pelumat listrik (blender)
- Alat pengaduk atau pemusing magnetik
- Almari es (refrigerator)
- Autoclaf
- Batang pengaduk (glass rod stirrer) 7 mm x 15 cm
- Baki (tray) plastik 60x40x3 cm
- Botol pijit (untuk pembersih)
- Botol-botol kecil tutup kaca untuk reagensia
- Cawan petri (petri dishes pyrex, telepa petri) dengan bermacam ukuran
- Cincin besi berkasa (wire screen) dengan pemegang (clamp universal) serta tiang standar (statif, laboratory stand) 60 cm, cincin bertangkai (ring standar) 50 mm
- Corong (funnel glass) dengan bermacam ukuran; garis tengah 65 dan 150 cm.
- Ember plastik (bucket plastic) 5 liter
- Gelas ukur (measuring cylinder) dengan bermacam ukuran
- Gelas piala (beaker) bermacam ukuran
- Gelas (kaca) arloji atau syracuse (watch glass), 76-150 mm
- Gelas (kaca) objek 7,5 x 2,5 x (0,8-1,2) cm dan kaca penutup (deck glass) 22x22 mm
- Gunting dan skapel (dissecting set instrument)
- Hemositometer set
- Inkubator
- Jam detik (stop clock); pencatat waktu (ticker timer)
- Jarum ose atau jarum inokulasi, dan jarum sonde
- Kaca objek kulutur mikro (slide micro culture), ukuran objek glass biasa
- Kaki tiga (tripoid) diameter 13 cm tinggi (15-25) cm dengan kawat kasa asbes (gauze, iron, asbestos center, clay triangle)
- Kertas saring (filter paper, 10 cm, box of 100), saringan kain kasa
- Kertas lakumas
- Kompor listrik (hot plate), kompor pompa minyak tanah (kerosene pressure stove)
- Labu Erlenmeyer (conical flask) dengan berbagai ukuran
- Labu (volumetric flask) dengan bermacam ukuran
- Lampu spiritus (spirit burner) atau lampu Bunsen

- Lumpang dan alu porselin (mortar and pestle)
- Lidi kapas, swab
- Mikroskop
- Neraca berlengan tiga (balance 2610gm x 0.1g), neraca ohaus type 311 (balance ohaus 311 x 0.01 gr)
- Oven listrik
- pH meter
- Pipet dan tabung pipet (penyimpan pipet steril)
- Pipet tetes (medicine dropper)
- Pipet ukur (pipette measuring) 25 ml, 10 ml
- Piring porselin berlobang (spot plate)
- Pipa gelas penghubung berbentuk T dan Y (connector T & Y shape glass)
- Pipa (glass) lurus diameter 7-8 mm, panjang (8-10) cm, pipa dengan bentuk leher angsa (S) panjang 30 cm, dan pipa bentuk J 30 cm
- Penjepit tabung reaksi (test tube holder)
- Pinset anatomis dan chirurgical (forceps)
- Sterilisator portabel
- Sentrifugal listrik dan tabung alat pemusing (centrifuge tubes 15 ml)
- Sumbat karet dua lubang (26-32 mm), (23-27 mm)
- Sumbat gabus (stoppers cork, assorted pk, of 100)
- Tabung reaksi (test tube) 13x100mm, 25x150 mm, tabung reaksi kecil (Durham); dengan rak (test tube rack, 12 small holes)
- Waskom (wash bowl), ukuran 35-40 cm, tinggi 12-15 cm,

Tujuan

1. Mengetahui alat-alat yang digunakan dalam praktikum mikrobiologi.
2. Mengamati dan membuat gambar atau catatan tentang alat-alat yang digunakan (spesifikasi, kapasitas, ukuran, kualitas, dll).

Prosedur atau cara

Untuk tiap kelompok mahasiswa disediakan sejumlah alat, dan selesai tugas masing kelompok, kelompok pindah ke meja lain yang juga tersedia sejumlah alat; demikian seterusnya sehingga semua mengenal alat yang diperagakan. Laporan kelompok diserahkan minggu berikut setelah dilakukan cross check dengan literatur yang ada di perpustakaan.

3. MENGGUNAKAN MIKROSKOP

Konsep Dasar

Sebagai diketahui bahwa kemampuan mata untuk melihat benda atau makhluk yang kecil adalah terbatas. Untuk itu diperlukan alat bantu, dan alat bantu yang sering digunakan adalah mikroskop (Latin: micro = kecil; scopein = melihat). Benda yang diamati dinamai objek (Latin: objectum = sesuatu yang diketengahkan).

Mikroskop bermacam-macam mulai dari yang sederhana sampai kepada yang lebih kompleit (lengkap, canggih). Mikroskop sederhana contohnya adalah kaca pembesar (loupe). Mikroskop dalam sehari-hari adalah mikroskop majemuk terdiri dari susunan beberapa lensa, misalnya mikroskop monokuler (Latin: mono = satu; oculus = mata), yaitu mikroskop yang digunakan dengan satu mata. Banyak modifikasi mikroskop lain yang digunakan di laboratorium-laboratorium, termasuk laboratorium biologi. Semuanya itu tergantung kepada urgensi dan kepentingannya.

Bagi kepentingan pendidikan pemula untuk mikroskop barangkali memadai dengan mikroskop monokuler.

Objek yang diselidiki dengan mikroskop monokuler haruslah mempunyai ukuran yang kecil, tipis, tembus cahaya; karena dalam penggunaan mikroskop ini memerlukan cahaya yang ditembuskan.

Tujuan

Mengenal mikroskop monokuler atau binokuler, cara menggunakan serta merawatnya.

Alat/Bahan

1. Mikroskop monokuler, atau binokuler
2. Beberapa gelas objek dan gelas penutup
3. Pinset
4. Pipet penetes
5. Gelas piala
6. Penggaris plastik bening dengan skala mm
7. Gunting
8. Kain lap flanel
9. Kertas saring
10. Potongan koran atau gambar dari majalah

Cara bekerja (Prosedur)

1. Mikroskop disiapkan dengan mengeluarkannya dari

kotak/almari penyimpanan. Mikroskop diangkat dengan memegang erat pada tangkai/lengan mikroskop, yaitu bagian yang melengkung, dengan sebelah tangan, dan tangan yang lain menahan atau menyangga bagian bawah/kaki mikroskop agar tidak jatuh. Mikroskop diletakan di atas meja laboratoriuun agak ketengah agar tidak mudah jatuh dan tidak tersenggol. Sebelum digunakan ada baiknya dikenal/diingat kembali bagian-bagian dari mikroskop, yaitu:

- a. Lensa okuler, biasanya dengan pembesaran 10 x
 - b. Tabung lensa
 - c. Revolver dengan lensa objektif kuat, sedang dan lemah
 - d. Pengatur kasar dan pengatur halus
 - e. Lengan mikroskop dengan engsel inklinasi
 - f. Kaki mikroskop
 - g. Meja objek beserta jepitan objek
 - h. Diafragma
 - i. Cermin (plano dan cekung), dapat diputar-putar.
2. Tabung lensa dapat diturun-naikkan dengan memutar pengatur kasar. Agar lensa objektif tidak menyentuh meja objek apabila revolver diputar-putar, maka sebaiknya tabung lensa dinaikan. Pada tahap awal, gunakanlah lensa objektif lemah (ukurannya lebih pendek) langsung berada di bawah okuler. Lalu diafragma (Latin: dia = menembus; phragma = pagar) dibuka selebar-lebarnya dengan jalan menggeser bagian yang menonjol pada samping diafragma. Bersamaan dengan itu sekalian letak cermin diatur sehingga pantulan cahaya betul-betul melalui lobang meja objek, sampai terlihat terang merata pada observasi di okuler. Jika terlihat silau, maka besar lobang diafragma diatur sedemikian rupa dengan jalan menggeser-geser tombol/tonjolan yang terdapat pada diafragma tadi. Apabila lensa terlihat berkabut atau berdebu, sebaiknya dibersihkan dahulu dengan kain lap flanel dengan jalan menggosok melingkar di mulai dari tengah ke tepi dengan tekanan yang lemah. Dan sekali-kali jangan digunakan kain yang kasar, keras karena dapat merusak permukaan lensa. Selama mengatur cahaya biarkanlah letak kondensor setinggi mungkin. Bila sumber cahaya adalah sinar matahari, gunakanlah cermin datar; dan bila sumber cahaya dari lampu pijar atau lampu sorot, gunakanlah cermin cekung untuk memfokuskan cahaya. Seandainya cahaya sudah diperoleh maksimum, maka lakukan pengaturan cahaya sesuai dengan keperluan. Seandainya pemeriksaan menggunakan preparat dengan sedikit kontras, misalnya sediaan basah, maka kurangilah jumlah atau banyaknya cahaya dengan cara menurunkan kondensor, atau dengan jalan mengecilkan diafragma. Apabila sediaan berupa preparat dengan banyak kontras, misalnya sediaan darah yang dipulas (diwarnai), atau sediaan histologi yang

dipulas, maka cahaya dicukupkan dengan meninggikan kondensor, atau dengan memperbesar diafragma. Dan yang perlu diingat cahaya jangan sampai menyilaukan, sehingga sulit untuk mengenal objek. Sebagai pegangan, untuk pembesaran kecil, kondensor diletakkan lebih rendah; pembesaran menengah (sedang), kondensor ditempatkan tinggi tidak maksimal; pembesaran menggunakan emersi, kondensor tinggi maksimal.

3. Bahan yang akan diamati dipersiapkan dengan jalan meletakkan diatas gelas objek dengan ditutup dengan gelas penutup. Sebelumnya tentu gelas-gelas ini harus bersih lebih dahulu. Membersihkan gelas objek yaitu dengan jalan memegang pada pinggirnya dengan cara menjepit menggunakan ibu jari dan jari telunjuk. Gelas dicelupkan kedalam air, lalu bersihkan serta keringkan dengan jalan menggosok dengan kain pembersih lemas serta lembut, atau dengan menggunakan kertas saring. Kain yang lembut dan lunak atau kertas saring dilipatkan, dan diantara lipatan ini ditaruh gelas objek/penutup dan gelas digosok serentak dengan memegangnya antara ibu jari dan telunjuk. Setelah bersih dibuat preparat basah diatasnya untuk diamati dibawah mikroskop.
4. Untuk berlatih pengenalan, preparat dibuat dengan jalan menggunting-gunting koran ukuran 3 x 3 m yang sedikitnya mengandung satu huruf. Potongan kertas diletakkan pada satu permukaan saja (bagian atas) dari kaca objek. Dengan pipet tetes, diteteskan setetes air pada potongan kertas tadi dan air akan diisapnya. Lalu preparat ditutup dengan kaca penutup. Air yang tersisa akan membentuk film yang tipis antara gelas objek dan kaca penutup. Agar tidak terdapat gelembung udara pada film tipis yang dapat mengganggu pengamatan diperlukan teknis tersendiri, yaitu sebelum ditutup dengan kaca penutup kaca dipegang dengan membuat sudut atau kemiringan 45 derajat dengan gelas objek. Tepi bawah kaca penutup permukaannya menyentuh gelas objek sekalian juga menyentuh tetesan air. Perlahan-lahan kaca penutup direbahkan, dan dengan bantuan jarum anatomi pelan-pelan kaca penutup ditekan agar gelembung udara yang mungkin ada akan dapat dihilangkan.
5. Fokus mikroskop diatur dengan jalan menaikkan tabunglensa sambil memutar pengatur kasar sampai jarak objektif lemah dengan permukaan meja objektif sekitar 2 cm. Preparat kemudian ditempatkan di meja objektif sehingga potongan koran yang ada hurufnya tadi tepat di tengah lobang meja objek. Agar preparat tidak mudah bergeser digunakan jepitan objek. Tabung lensa diturunkan dengan memutar pelan-pelan pengatur kasar sehingga jarak lensa objektif dan kaca penutup kira-kira 1 mm. Sambil mengamatilewat okuler diperhatikan huruf pada objek, apakah sudah jelas

terlihat. Bila bayangan huruf terlihat kabur, maka yang dimainkan adalah pengatur halus dengan jalan memutar-mutarnya muka belakang sampai didapat fokus mikroskop dengan baik. Bila fokus sudah didapat maka besarnya diafragma diatur pula sehingga huruf terlihat dengan jelas. Dalam mengamati ini perlu diperhatikan juga bayangan huruf yang terbentuk, baik yang nampak dalam okuler maupun yang terpasang pada kaca objek. Apakah letak bayangannya sama, atau terbalik?. Ataupun huruf itu terlihat sebagai bayangan cermin?. Sambil diperhatikan dalam okuler, preparat digeser ke kiri dan ke kanan atau ke muka dan ke belakang. Bandingkan pula perbedaan arah geseran dan arah bayangan yang terlihat dalam okuler.

6. Sekarang gunakan objektif kuat dengan jalan menggeser atau memutar revolver. Dan hati-hati jangan objektif menyentuh kaca objek atau kaca penutup. Prosedur diulangi lagi seperti pada penggunaan objektif lemah yaitu dengan melihat fokus mikroskop sambil mengatur gerakan pengatur halus. Dengan menggunakan berbagai objektif akan didapat pembesaran bayangan dari objek yang diamati. Apabila okuler berukuran 10 x dan objektif berukuran 12 x, maka pembesaran bayangan keseluruhan adalah berdiameter 10x12, atau 120 diameter. Artinya dengan mata bugil atau mata biasa dalam jarak 25.4 cm suatu benda terlihat dengan 1 diameter, maka dengan pembesaran mikroskop akan terlihat bayangannya 120 diameter. Apabila yang digunakan objektif kuat, maka pembesaran akan bertambah. Misalnya okuler 10 x, objektif 45 x, maka besar bayangan adalah 10x45 atau 450 diameter.
7. Untuk mendapatkan ukuran yang sebenarnya dari objek mikroskopis cukup sukar karena diperlukan ukuran panjang yang lebih kecil dari cm atau mm. Ukuran panjang yang biasa digunakan dalam benda mikroskopis adalah mikron ($1/1.000$ mm), dengan lambang huruf Yunani μ (baca: mu). Untuk menaksir ukuran objek biasanya dilakukan dengan jalan melihat ukuran lingkaran bidang pandang, lalu dibandingkan dengan ukuran objek. Ukuran bidang pandang dibuat dengan jalan meletakkan mistar/penggaris plastik berskala milimeter (mm) diatas meja objek. Dengan mengatur fokus serta menggunakan objektif lemah akan didapat bidang pandang yang sekalian berisi skala bayangan dari skala penggaris plastik tadi. Dengan menggeser secara cermat dapat dibuat ukuran garis tangan pada lingkaran bidang pandang sampai berapa skala mm ditunjukkan oleh penggaris plastik tadi. Lalu hitung berapa panjang diameter bidang tadi dengan mikron.
Hal yang sama dibandingkan apabila yang dipakai adalah objektif kuat. Dengan demikian akan didapat hasil bagi angka pembesaran objektif kuat dengan angka pembesaran objektif lemah. Misalnya angka pembesaran objektif lemah

10x, sedangkan angka pembesaran objektif kuat adalah 45x maka hasil baginya adalah $45:10 = 4.5$. Jika diameter bidang pandang objektif lemah sama dengan 2000 u, maka diameter bidang pandang objektif kuat sama dengan $2000 : 4.5 = 444.44$ u.

Dengan menggunakan cara ini akan didapat diameter bidang pandang mikroskop dengan objektif tertentu.

Pada percobaan selanjutnya penggaris plastik diangkat dari meja objek dan kembali diletakkan preparat basah yang berisi objek (misalnya huruf-huruf tadi). Perkirakanlah setinggi mungkin tempat huruf tersebut yang sebenarnya dalam milimeter. Dan selanjutnya hitunglah dalam mikron.

Pemeliharaan mikroskop

Mengingat pentingnya mikroskop maka perlu pemeliharaan yang cermat. Membawa atau mengangkat mikroskop haruslah selalu dalam keadaan tegak dengan satu tangan memegang erat lengan/tangkai mikroskop dan tangan yang lain menahan pada bagian kaki. Apabila dalam pemakaian, tabung lensa perlu dimiringkan, maka menggerakannya adalah melalui engsel inklinasi sebagai sumbu putar. Selesai menggunakan hendaklah mikroskop ditegakkan kembali sebagai posisi semula. Biasakanlah setiap selesai praktikum lensa objektif lemah berada dibawah okuler, dan aturlah objektif lemah kira-kira berjarak sekitar 1 cm dari meja objek. Demikian pula dengan penjepit objek, letaknya dibenahi jangan ada yang menonjol ke samping meja objek. Baru mikroskop dikembalikan atau dimasukkan kedalam kotak/lemari mikroskop, dan dikunci dengan baik agar tidak terjatuh waktu mengangkat atau memindahkan pada tempat penyimpanan.

Yang perlu diperhatikan adalah mikroskop harus berada dalam keadaan baik. Semua alat pemutar untuk menaikkan atau menurunkan laras atau tabung mikroskop harus lancar, tidak macet, dapat diatur sesuai dengan keperluan. Alat pemutar kondensor, maupun pemutar halus (mikrometer) dapat diputar-putar dan diatur sesuai keperluan.

Peralatan berupa lensa dan cermin perlu perhatian khusus, karena keberhasilan praktikum ditentukan oleh kondisi alat-alat ini. Untuk lensa okuler pembesaran 5 x dan 10 x (Leitz) atau 6 x dan 10 x (Reichert), sebelum dipakai diperiksa terlebih dahulu. Janganlah pada waktu mengambil atau memasang lensa berbuat kesalahan, yaitu meninggalkan sidik jari pada bagian bawah lensa. Apabila hal ini terjadi akan mempengaruhi pengamatan.

Lensa objektif pembesaran 10 x, 45 x, dan 100 x (lensa emersi) perlu menjadi perhatian. Periksalah apakah lensa-lensa ini berada dalam keadaan bersih dan kering. Setelah memakai minyak emersi lensa dibersihkan dengan baik. Apabila emersi ecer, bersihkan dengan kapas kering; akan tetapi apabila emersinya kental bersihkan dengan xylol dan segera

bersihkan dengan kapas kering. Perlu perhatian jangan memakai xylol terlalu banyak karena xylol dapat merusak semen perekat lensa, sehingga lensa dapat copot dari gagang pemegang lensa. Kondensor perlu perhatian terhadap tumpahan zat cair, seperti: eosin, garam fisiologis, lugol, KOH, air dan sebagainya. Segeralah keringkan dengan kertas tissue ataupun dengan kapas kering.

Cermin pengatur cahaya juga dijaga kebersihannya, dan sekali-kali jangan dibiasakan memegang permukaan cermin akan tetapi peganglah pada bingkai atau pinggirnya.

Jangan lupa, bahwa dalam penggunaan sediaan basah meja preparat/sediaan pada mikroskop tidak boleh dimiringkan, sehingga cairan tidak meleleh merusakkan atau mengotori mikroskop terutama kondensor.

Semua gelas objek dan kaca penutup dibersihkan. Juga sampah-sampah dibuang pada tempat yang telah ditentukan.

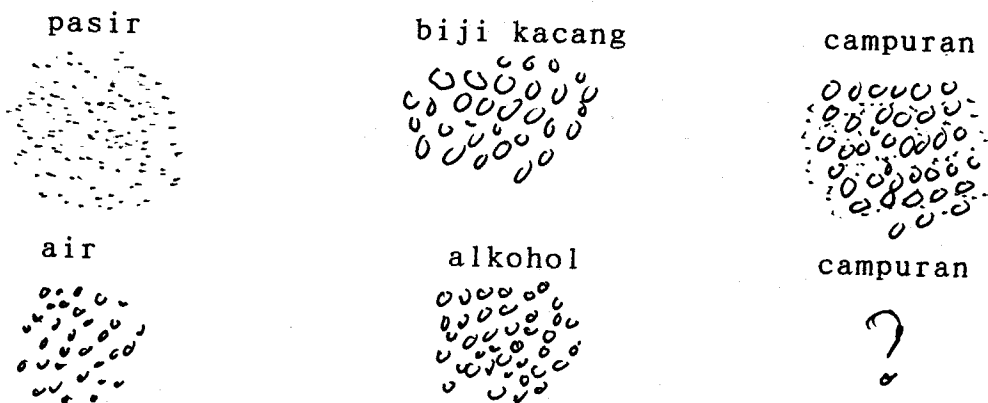
Untuk bekerja dengan baik dan menyenangkan perlu pengaturan tempat duduk sesuai dengan ukuran badan.

4. CAMPURAN DAN LARUTAN

Prinsip dasar

- * a. 50 ml air dalam gelas ukur (1)
50 ml air dalam gelas ukur (2)
Keduanya dicampurkan, maka volumenya menjadi ?
 - b. 50 ml alkohol + 50 ml alkohol, volumenya menjadi ?
 - c. 50 ml pasir halus + 50 ml pasir halus, maka volume pasir halus menjadi ?
 - d. 50 ml biji kacang hijau + 50 ml biji kacang hijau, maka volume campuran ini menjadi ?
-
- * 50 ml air dalam gelas ukur (A)
50 ml alkohol dalam gelas ukur (B)
Tuangkanlah (A) ke dalam (B), air dan alkohol akan bercampur.
Berapakah volume campuran yang Anda harapkan dan berapa volume sesungguhnya terjadi ?
Kenapa hal itu demikian ?
-
- * 50 ml pasir halus (A)
50 ml biji kacang hijau (B)
(A) dituangkan ke dalam (B), maka volume yang didapat adalah ?

Kerangka untuk membantu konsep berpikir:



molekul-molekulnya dibesarkan

- * 10 ml garam dapur halus dalam gelas ukur (1)
50 ml air dalam gelas ukur (2)
(1) dituangkan ke dalam (2) terjadi campuran (larutan) garam dalam air.
Berapa perkiraan volume larutan menurut Anda (sebelum percobaan dilakukan), dan setelah percobaan berapa volume larutan yang terjadi ?
Diskusikanlah dengan teman Anda.
Air mempunyai partikel-partikel. Apakah butir-butir garam dapat terlihat dalam campuran ? Berilah alasan.
- * Taruhlah beberapa tetes larutan yang berbau khas di atas kaca arloji. Biarkan beberapa saat sampai larutan berkurang bahkan habis atau tidak tampak lagi, tapi baunya masih ada/tersisa. Perubahan apa yang terjadi dan apa yang kejadian pada partikel-partikel larutan ?
- * Taruhlah kristal iodine ke dalam tabung reaksi dan tutup dengan kapas. Panaskan hati-hati tabung reaksi dengan nyala lampu spiritus. Bagaimana kira-kira susunan partikel iodine sebelum dipanaskan dan begitu pula sesudah dipanaskan.
- * Isilah tabung reaksi dengan air kira-kira $\frac{3}{4}$ nya. Dengan pipet berisi zat warna pelan-pelan dan hati-hati dimasukkan zat warna sehingga berada pada dasar tabung reaksi. Tunggu satu jam dan biarkan sampai beberapa hari (1 minggu). Apakah yang terjadi dengan molekul larutan zat warna di dalam air ?
- * Buatlah larutan agar-agar dan biarkan beku dalam tabung reaksi. Teteskan beberapa tetes larutan zat warna pada agar yang beku tadi, dan selanjutnya tutup tabung reaksi dengan gabus. (A).
Tabung reaksi yang lain dibuat pula seperti di atas, akan tetapi setelah tabung disumbat tabung diletakkan terbalik dengan mulut tabung ke bawah. (B).
Kedua tabung (A) dan (B) dibiarkan satu jam dan perhatikan perbedaan yang terjadi. Tunggulah sampai satu minggu. Peristiwa apa yang terjadi dengan molekul-molekul zat warna dengan molekul zat padat (agar-agar beku) ? Apa yang diharapkan dari kedua tabung (A) dan (B) yang diletakkan pada posisi tidak sama ini ?
- * **Kadar larutan dalam persen**
Kadar atau harga kuantitatif suatu larutan untuk praktikum biasanya dinyatakan dalam persen (%), artinya per seratus bagian. Pernyataan ini menyatakan banyaknya bahan yang

dilarutkan, atau sekian gram per 100 ml bahan pelarut. Larutan natrium klorida 5% dalam air, maksudnya larutkanlah 5 gr natrium klorida di dalam sedikit air, kemudian sambil diaduk tambahkan air secukupnya sampai volumenya menjadi 100 cc. Larutan dikocok seluruhnya. Kalau kadar dinyatakan dalam per mille (o/oo), artinya per seribu atau per liter, karena satu liter sama dengan 1.000 ml. Untuk mengubah gram per liter menjadi persen, hendaklah dibagi dengan 10. Misalnya 10 gr per liter (10 gr/L) sama dengan 1%. Untuk mudah mengingat gram per liter sama juga dengan mg per ml. 10 gr per liter sama dengan 10 mg per ml. Untuk kadar larutan berasal dari zat cair (misalnya alkohol), tidaklah dinyatakan gram alkohol per tiap 100 ml, tetapi dalam volume yaitu ml (cc). Alkohol 70%, artinya 100 ml larutan berisi 70 ml alkohol murni.

* **Teknik analisis volumetrik**

Mengencerkan suatu larutan, misalnya larutan 10% diencerkan menjadi larutan 5%.

Cara A:

Dengan pipet 50 ml yang bersih dan kering kita ambil 50 ml larutan 10 % dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml yang bersih. Kemudian tambahkan air sampai tanda garis 100 ml. Tutup dengan sumbat yang bersih dan dikocok.

Cara B:

Ambil 50 ml larutan 10% ini dengan pipet dan masukan ke dalam labu Erlenmeyer yang bersih dan kering. Kemudian dimasukan pula air 50 ml dengan pipet yang kedua (pipet yang pertama dapat juga dipakai, asal saja sudah dicuci dengan air baik-baik), kemudian dikocok.

* **Larutan Lugol**

R/ Iodium 1 gram
Kalium Iodida (KI) 2 gram
Aqua ad 300 ml

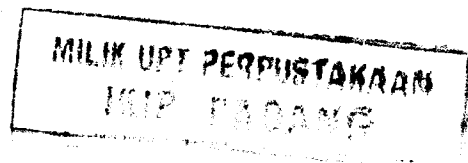
Geruslah iodium bersama-sama dengan KI di dalam lumpang hingga homogen dengan menambah air sedikit demi sedikit, dan dibiarkan 24 jam, lalu saring dan di simpan dalam botol coklat.

* **Pembuatan Larutan HCl 0,1 N**

8,6 ml HCl conc. diteteskan ke dalam 500 ml aquadest sambil diaduk pelan-pelan. Kemudian jadikan volume 1.000 ml.

* **Larutan garam fisiologik**

Cairan jaringan adalah syarat hidup bagi sel-sel badan. Cairan ini adalah larutan tempat terjadinya pertukaran zat-zat makanan dan oksigen dengan zat-zat sisa pembakaran



dan karbondioksida. Dari penelitian telah dibuktikan bahwa jaringan yang dikeluarkan (diisolasi) dari tubuh memerlukan cairan yang komposisinya kira-kira sama dengan cairan tubuh agar jaringan yang dikeluarkan tersebut dapat bertahan. Komposisi itu terutama terhadap kation dan juga kadar ion hidrogen sedapat-dapatnya mendekati dengan kadar yang terdapat dalam cairan tubuh. Cairan garam fisiologik itu antara lain adalah :

- a. Larutan Ringer, digunakan dalam laboratorium untuk hewan-hewan berdarah dingin, misalnya kodok, dan sebagainya.

NaCl 0.70 gr
KCl 0.014 gr
CaCl₂ 0.012 gr
Air suling ad 100 ml

Untuk menjadikan kadar ion Hidrogen bergeser sedikit kebagian alkalis dapat ditambahkan sedikit NaHCO₃

- b. Larutan Locke, seperti halnya di atas, akan tetapi ditambahkan sedikit glukosa untuk meninggikan tekanan osmotik. Tekanan osmotik dalam darah mamalia lebih tinggi dari tekanan osmotik darah kodok atau kura-kura.

- c. Larutan garam NaCl fisiologik, yaitu larutan NaCl 0.9%; tekanan osmotiknya sama dengan larutan Ringer.

* **Sel buatan**

Letakkan atau taruhlah sebuah gelas (kaca) arloji bersih di atas selembar kertas putih. Kedalam kaca tadi diisikan sejumlah asam nitrat lemah (encer) dengan pipet tetes sebanyak 0.5-1 ml. Satu tetes air raksa dengan diameter 0.5 cm dengan bantuan pipet tetes lain dimasukkan ke dasar kaca arloji (di bawah permukaan asam nitrat). Sepotong Kalium bikromat (0.3 cm) dengan pinset dimasukkan atau diletakan ke dalam cairan nitrat dengan jarak sekitar 1.75 cm dari butir air raksa. Kalium bikhromat akan terlihat melarut dalam asam, dan kaca arloji akan berwarna kuning. Perhatikanlah apa yang terjadi dengan butir air raksa.

Note: Selesai percobaan, butir air raksa diambil kembali dengan bantuan pipet tetes mata dan air raksa tersebut disimpan kembali pada tempatnya.

* **Kecepatan difusi**

Cairan agar dituangkan ke dalam cawan petri sampai tingginya dalam cawan petri sekitar 3/4 - 1 cm. Cairan agar dibiarkan dingin dan membeku jadi padat. Dengan bor pelobang, dibuat 4 buah lobang dengan jarak masing-masing 1.5 cm terhadap salah satu dari lobang tersebut yang dijadikan lobang patokan. Lobang patokan diisi dengan larutan perak nitrat, sedangkan lobang yang lain dengan larutan NaCl 0.1 n, larutan KBr, dan larutan Kalium fero

sianat. Pengisian lobang jangan sampai melimpah ke luar, dan untuk itu digunakan dengan pipet tetes. Secara periodik diobservasi dan diperhatikan kecepatan difusi masing-masing larutan. (buat skema jarak difusi).

Bahan diskusi : contoh difusi gas dalam gas; cairan dalam zat padat; dan cairan dalam cairan. Apa pentingnya peristiwa difusi pada tubuh hewan atau tumbuhan? Bagaimana pengaruh temperatur dan konsentrasi dalam kecepatan difusi/ Apa peran gerak Brown dalam peristiwa difusi.

* **Mengukur kecepatan osmosis**

Sepotong usus halus sapi (sekitar 20 cm), dibersihkan baik-baik, dan salah satu ujungnya dilipat dan diikat erat-erat. Ujung yang lain dapat disumbat dengan sumbat botol karet yang pada sumbat tersebut dapat dipasang pipet yang dilengkapi dengan kertas millimeter (skala). Kedalam kantong usus dimasukan cairan sukrosa yang dicampur beberapa tetes zat warna (congo red). Kantong usus disumbat dan ditutup dengan sumbat karet berpipa kapiler, lalu diikat erat-erat. Kantong usus dimasukan/dicelupkan dalam gelas piala berisi air akuadestilata dengan pipa kapiler tegak lurus. Pipa kapiler dipegang dengan klemp pada statif. Group yang lain dapat membuat osmometer dengan isinya cairan albumin telur atau larutan NaCl sebagai pengganti larutan sukrosa. Panjang pipa kapiler sekitar 30 cm terpegang kepada standard (statif). Lihat sampai berapa tinggi cairannya pada kapiler, dan perhatikan juga saat keluarnya cairan merah ke dalam gelas piala. Observasi dengan interval lima menit. Untuk diskusi: Apa yang diaksud dengan osmosis; Apa bedanya osmosis dengan difusi; Butir sel darah merah dalam akuadestilata, apakah kemungkinan yang terjadi. Kantong mempunyai permiabel berbeda-beda dalam larutan gula, dan kini dimasukan larutan gula 5%, lalu ditaroh dalam gelas yang berisi larutan gula 10%. Apakah yang kejadian?

5. BIOKIMIA: BEBERAPA TES MAKANAN

* Tes amilum

Taruhlah sedikit bubuk zat tepung (amilum) dalam lesung baki, dan tambahkan satu tetes larutan iodine encer (lemah). Apakah yang terjadi ?

Taruhlah pada berbagai lesung baki yang lain masing-masingnya sedikit makanan dari jenis makanan berbeda (beragam), dan untuk tiap lesung diteteskan satu tetes larutan iodine encer. Dari hasil percobaan di atas, buatlah suatu daftar tabel nama-nama jenis makanan yang mengandung amilum (sedikit, sedang, banyak, tidak ada). Atau makanan 'starchy foods' dan 'non-starchy foods'.

* Tes Molisch

Prinsipnya adalah pembentukan cincin furfurol atau turunannya (hidroksi metil furfurol) disebabkan oleh daya dehidrasi asam sulfat pekat. Senyawa karbohidrat dengan asam sulfat pekat akan membentuk cincin furfurol. Apabila karbohidrat direaksikan dengan larutan naftol dalam alkohol lalu ditambahkan asam sulfat pekat secara hati-hati, maka pada batas cairan akan terbentuk furfural yang berwarna ungu, sebagai reaksi umum tanda adanya karbohidrat.

2-5 ml larutan yang akan di tes dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu teteskan 2 tetes reagen Molisch dan campurkan baik-baik. Tabung reaksi dimiringkan dan melalui dinding tabung reaksi dengan hati-hati dialirkan 2 ml asam sulfat pekat, pelan-pelan akan terjadi reaksi. Terlihat warna violet kemerahan (reddish-violet) pada pertemuan kedua cairan yaitu terbentuk cincin. Bila terjadi demikian tes positif menandakan dalam larutan ada karbohidrat baik dalam bentuk bebas atau terikat. Apabila tidak terbentuk cincin violet kemerahan (ungu) tes negatif tanda tidak terdapat karbohidrat dalam bahan yang dites.

Adakalanya tes juga positif dengan bahan mengandung protein, ini disebabkan beberapa protein mengandung gugus karbohidrat, yaitu glikoprotein.

Reagen Molisch adalah 10 gram naftol di dalam 100 ml etil alkohol 95%. Apabila naftol tidak ada dapat diganti dengan thimol.

Sebagai perbandingan dapat digunakan bermacam bahan, antara lain 0,1 M glukosa, 0,1 M sukrosa, 0,1 M maltosa, larutan kanji 1%.

*** Tes Fehling**

Larutan Fehling A : CuSO₄ 69 gram
Aqua ad 1.000 ml
Larutan Fehling B : KNa tartrat (seignette salt) 350 gram
NaOH (Rochelle salt) 100 gr
Aqua ad 1.000 ml
Campurkan Fehling A dan B sama banyak, larutan akan berwarna biru.

Larutan yang akan dites 20 ml dalam tabung reaksi + 5 ml (Fehling AB) ---> larutan akan berwarna biru.

Campuran (tabung reaksi) dipanaskan sambil digoyang-goyang maka terjadi perubahan warna biru yang mungkin menjadi hijau, kuning, sindura, merah batu bata, atau tetap biru. Bila tetap berwarna biru maka tes negatif. Apabila terjadi perubahan warna biru tes positif.

Warna merah ---> gula banyak.

Warna hijau ---> gula sedikit.

CuSO₄ (biru), Cu(OH)₂ berubah menjadi CuO + H₂O (kuning). CuO berubah menjadi Cu₂O (merah).

*** Reagen Kualitas Benedict**

A. Citras naticus 173 gr
Carbonas naticus anhydrous 100 gr
Aqua ad 600 ml
B. Cupri sulfas (kristal) 17,3 gr
Aqua ad 100 ml

Larutan B tambahkan ke larutan A, kocok/aduk, dan jadikan volume 1.000 ml.

Ambil dan masukan 5 ml larutan Benedict dalam tabung reaksi.

Teteskan larutan yang akan diuji 8 tetes (0,4 ml). Panaskan atau rebus dalam water bath sampai mendidih selama 2 menit.

Larutan biru jernih ---> tes negatif

Larutan hijau agak kuning ---> samar-samar (+)

Kuning sampai merah muda ---> ++ (konsentrasi 1%)

Merah muda sampai merah tua ---> +++ (konsentrasi 2%)

Prinsip reaksi adalah gugus aldehida atau keton bebas akan mereduksi larutan tembaga alkalis sehingga terbentuk kuprooksida yang berwarna. Pemberian natrium sitrat adalah dalam mencegah terbentuknya endapan kuprokarbonat (CuCO₃). Dalam uji makanan, bahan makanan yang akan diperiksa dihaluskan (digiling) dan dibuat dalam bentuk larutan. Untuk praktikum dapat digunakan berbagai jenis makanan. Untuk percobaan dapat dikembangkan dengan menggunakan bahan 0,1 M glukosa, 0,1 M sukrosa, 0,1 M laktosa, 0,1 M maltosa, larutan kanji, dan lain-lain.

* Tes Moore

5 ml larutan yang akan dites ditambahkan 1 ml 10% NaOH, dipanaskan dalam water bath lalu diobservasi warna dan bau sesudah 5 menit. Warna kuning coklat dan bau yang enak (sweet) seperti bau gula terbakar indikasi reaksi positif, yaitu adanya karbohidrat mempunyai reducing agent.

* Tes reduksi karbohidrat

Tiga buah tabung reaksi:

- a. 2 ml 1% CuSO_4 + 2 ml 10% NaOH, biarkan dan terjadi reaksi endapan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ biru keputihan.
- b. 2 ml 1% CuSO_4 + 2 ml 10% NaOH. Tambahkan 5 tetes 1% glukosa. Akan terjadi endapan merah.
Semua karbohidrat yang mempunyai reducing agent akan memberikan reaksi positif, yaitu terjadinya reduksi CuO menjadi Cu_2O .
- c. Seperti pada (a), tetapi tambahkan larutan 30% Na sitrat sampai endapan larut.

Ketiga tabung reaksi dipanaskan dalam water bath dan diobservasi hati-hati.

Tambahkan ke dalam tabung (c) beberapa tetes glukosa dan panaskan lagi. Catatlah hasilnya.

Pada tabung (a) bila dipanaskan, endapan menjadi hitam (CuO). Pada tabung (b) endapan merah karena reduksi CuO menjadi Cu_2O .

MILIK UPT PERPUSTAKAAN
IKIP PADANG

* Tes Barfoed

Bahan pereaksi adalah kupri asetat dan asam asetat. Kedalam 5 ml pereaksi dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml larutan contoh, kemudian tabung reaksi ditempatkan dalam air mendidih selama 1 menit. Endapan berwarna merah oranye menunjukkan adanya monosakarida dalam contoh.

* Tes Antron

Sebanyak 0.2 ml larutan contoh di dalam tabung reaksi ditambahkan ke dalam larutan antron (0.2% dalam asam sulfat pekat). Timbulnya warna hijau atau hijau kebiruan menandakan adanya karbohidrat di dalam larutan contoh. Uji ini sangat sensitif dan dapat memberikan hasil positif apabila dilakukan pada kertas saring yang mengandung selulosa.

* Tes Iodine

Taruhlah sedikit tepung pada piring porselin dan teteskan larutan iodine lemah (encer). Catatlah warna biru. Ulangi

dengan gummi arabikum, agar.

Prinsip reaksi adalah absorpsi dan difusi Iodine oleh molekul amilum. Tepung bagian luarnya amilopektin dan bagian dalam amilosa.

Gum arabic + Iodine ---> warna tetap, tidak ada perubahan. Warna biru pada amilum karena iodine berada sekeliling molekul tepung. Apabila dipanaskan warna hilang karena iodin diserap oleh amilosa.

Pada tepung warna biru ungu karena absorpsi amilosa besar daripada amilopektin.

Pemanasan pada campuran tepung (pati) dengan larutan asam encer akan menghasilkan bahan berturut-turut amilodektrin (biru dengan iodium), eritrodektrin (merah dengan iodium). Akrodektrin, maltosa, dan glukosa tidak bewarna dengan iodium.

* Prinsip mengetahui sipat hidrolisa tepung terhadap larutan iodine.

10 ml larutan tepung dalam tabung reaksi + 6 tetes HCl concentrated, lalu dipanaskan dalam water bath. Lalu dengan interval 3 menit larutan dites pada piring porselin dengan menambahkan larutan iodin. Tambahkan terus sampai tidak ada warna iodin terlihat. Setelah dingin netralisasi dengan NaOH sampai larutan asam dengan lakumus, menjadi alkali dengan Congo red.

Tepung ---> larutan tepung (biru), selama 3 menit berubah ---> amilodektrin (biru ungu), selama 15 menit berubah ---> erithrodektrin (merah), selama 9 menit berubah ---> akhrodektrin (tidak bewarna). Total perubahan sekitar 27 menit.

Tepung + Iodine ---> biru. Bila dipanaskan warna hilang.

Tepung + iodine + 1% lar. Nathiosulfas ---> warna biru hilang. [Iodine + Na thiosulfas (Campuran bewarna biru) ---> $2 \text{NaI} + \text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6$ (warna hilang)]. Jadi jelas terjadi penyerapan warna.

* Tes Seliwanoff

Bahan perekasi segera dibuat sebelum tes dimulai. Pereaksi dibuat dengan mencampurkan 3.5 ml resorsinol 0.5% dengan 12 ml HCl pekat, dan kemudian diencerkan dengan 35 ml akuadestilata. Tes dilakukan dengan menambahkan 1 ml larutan contoh ke dalam 5 ml perekasi, dan kemudian ditempatkan dalam air mendidih selama 10 menit. Apabila terdapat warna merah cherry menunjukkan adanya fruktosa dalam contoh.

*** Pencernaan zat tepung dan mengukurnya**

- Kumpulkan cairan saliva Anda kira-kira sebanyak 1/4 tabung reaksi.
- Tambahkan sejumlah air (sama banyak dengan saliva) sehingga volumenya dua kali sebanyak saliva semula.
- Larutan enzim saliva disaring ke dalam gelas piala kecil.
- Sediakan 6 tabung reaksi, masing-masing diisi dengan 5 ml larutan zat tepung.
- Ke dalam tabung 3 dan 4 ditambahkan 1 ml larutan enzim dan dibiarkan 10 menit.
- Panaskan 1 ml larutan enzim selama 2 atau 3 menit dalam tabung reaksi, lalu tuangkan ke dalam tabung 5 dan 6 dan biarkan selama 10 menit.
- Tabung 1, 3 dan 5, masing-masingnya ditetesi 3 tetes larutan iodine; tabung 2, 4 dan 6, masing-masingnya ditetesi 5 ml larutan Benedict dan dipanaskan untuk beberapa menit dalam water bath; dan perhatikanlah apa yang terjadi dan tulislah reaksi yang terjadi.

*** Pengaruh pH terhadap aktivitas amilase saliva**

4 buah tabung reaksi masing-masing berisi :

- a. 2 ml 0,4% HCl,
- b. 2ml 0,1% asam laktat,
- c. 2 ml aquadestilata,
- d. 2 ml 1% Na karbonat.

Masing-masing tersebut mempunyai pH 1, 5, 7, dan 9.

Kepada tiap tabung ditambahkan 2 ml 1% larutan tepung (starch) dan 2 ml saliva yang tidak disaring. Masing-masing tabung dikocok hati-hati dan semuanya dipanaskan dalam water bath 37 derajat C selama 15 menit. Setiap tabung dibagi dua untuk tes iodine dan tes Benedict.

Prinsip:

HCl + starch + saliva, dipanaskan 37 derajat C + Iodine ---> warna kemerah-merahan (starch tidak terhidrolisa).

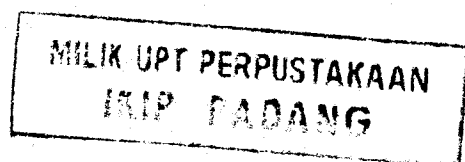
Asam laktat + starch + saliva, dipanaskan 37 derajat C + Iodine ---> warna Iodine tetap.

Aquades + starch + saliva, dipanaskan 37 derajat C + Iodine ---> warna Iodine hilang.

Nat.karbonat + starch + saliva, dipanaskan 37 derajat C + Iodine ---> warna Iodine hilang.

Penambahan aqua /nat.karbonat starch sempurna terhidrolisa menjadi maltosa. (kerja saliva pada pH 5-8,3).

Tes Benedict untuk tabung berisi HCl adalah negatif karena starch tidak terhidrolisa. Tes pada tabung yang lain positif karena starch terhidrolisa membentuk reducing agent.



* Pencernaan Raw Starch

5 ml air + sedikit tepung (raw starch), kocok. Tambahkan 10 tetes saliva yang telah disaring lalu panaskan 37 derajat C selama 20 menit. Kemudian disaring dan filtratnya dites dengan tes produksi pencernaan.

Prinsip:

Filtrat dites dengan Iodine, tes hasilnya negatif, karena seluruh amilum telah terhidrolisa menjadi maltosa.

* Pengaruh pH pada aktivitas saliva

Kumpulkan sejumlah saliva (sekitar 1/4 tabung reaksi), lalu tambah dengan aqua sama banyak. Saringlah ke dalam gelas piala kecil dengan saringan kain kasa.

Sediakan empat buah tabung reaksi dan isi masing-masingnya 5ml larutan zat tepung, dan masing-masing tabung juga diisi dengan 5 ml larutan dengan pH 3, pH 5, pH 7, dan pH 9.

Kepada masing-masing tabung ditetesi 5 tetes larutan enzim (saliva) yang telah disaring tadi. Masing tabung berisi larutan zat tepung dengan larutan enzim dengan pH 3, 5, 7, dan 9. Kepada masing-masing serial tabung dengan interval 1 menit ditambahkan larutan iodin dan perhatikan waktu saat berlangsungnya pencernaan (digesti).

* Solubilitas lemak

Lemak larut dalam pelarutnya (alkohol, eter, dan lain-lain). Lemak tidak larut dalam air.

Lemak + air ---> tidak terjadi larutan. Apabila dipanaskan terdapat lapisan minyak dipermukaan air.

Lemak + alkohol ---> jua tidak larut. Apabila dipanaskan, maka lemak larut dalam alkohol.

Prinsipnya, pemberian energi panas akan dirubah menjadi energi kinetis sehingga jarak molekul besar sehingga fasa padat menjadi fasa cair.

* Komposisi unsur pada protein

a. Bantuan panas.

Serbuk albumin pada cawan dipanaskan (perhatikan warna, bau) ---> bau rambut terbakar (karena ada senyawa nitrogen).

b. Bantuan NaOH.

Serbuk albumin dalam tabung reaksi dicampur dengan bubuk NaOH sebanyak dua kali serbuk albumin, lalu dipanaskan hati-hati ---> bau amoniak (memberikan reaksi pada kertas biru lakumus (karena ada N dan H)).

c. Bantuan NaOH, Pb asetat, HCl, dan panas.

Serbuk albumin + 5 ml 10% NaOH, panaskan campuran tersebut. Teteskan 10 tetes larutan Pb asetat. Larutan

bewarna gelap dan hitam. Tambahkan 1 ml HCl conc. secara hati-hati dan catat perubahan warna dan bau. Penambahan Pb asetat terbentuk endapan hitam (PbS), menyatakan ada unsur S. Penambahan HCl keluar bau busuk yang khas (gas H₂S) , juga memperjelas adanya unsur S.

* **Solubilitas Albumin**

3 ml larutan 2% albumin (putih telur), ditambah 3 ml air, atau 3 ml 10% NaOH, atau 3 ml 0,5% Na karbonat, atau 3 ml 0.2% HCl. Perhatikanlah apa yang kejadian. Pada kenyataan albumin (putih telur) larut dalam semua larutan di atas karena albumin (protein) bersifat amfoter.

* **Reaksi Xanthoprotein**

2ml 2% larutan albumin ditambah 1 ml larutan asam nitrat conc.(pekat). Campurlah hati-hati dan perhatikan endapan putih. Panaskan hati-hati catat perubahan warna kuning. Dinginkan dan teteskan hati-hati larutan NaOH 30% atau amonium hidroksida . Warna kuning berubah menjadi orange. Prinsip reaksi ini adalah menentukan cincin benzen pada asam amino. Larutan protein + HNO₃ conc, terbentuk warna kuning. Ditambah amonium hidroksida berlebihan warna menjadi oranye. Kalau penambahan hati-hati, yang terbentuk adalah cincin oranye. NO₂ dari nitrat ditangkap oleh cincin benzen, warna oranye disebabkan oleh penambahan alkali.

* **Tes atau penentuan vitamin C**

Vitamin C mempunyai daya reduksi, dan akan menimbulkan reaksi positif pada percobaan Benedict kualitatif. Diperlukan bahan asam askorbat 1%, reagen Benedict, dan pisang yang matang. Percobaan pertama dilakukan tes Benedict untuk larutan asam askorbat 1%. Percobaan berikut dua potong pisang yang masih segar, satu potong dimasukan ke dalam air dan sepotong lagi dimasukan ke dalam larutan asam askorbat 1%. Keduanya dibiarkan selama 0,5 jam dalam larutan masing-masing, lalu diamati. Potongan pisang yang di dalam air terlihat bewarna coklat kehitaman, sedang yang di dalam larutan askorbat 1% tetap seperti warna semula (awet). Pisang mengandung senyawa bergugus fenol sehingga oksidasi gugus fenol dihalangi oleh larutan askorbat. Daya reduksi dari vitamin C karena adanya gugus karbonil dan pada atom C₂ dan C₃ ada gugus enadiol hidroksi dan aldehid bebas.

6. MORFOLOGI BAKTERI DAN FUNGI MIKROSKOPIS

Morfologi Bakteri

Tujuan : Mengamati beberapa macam morfologi bakteri.
1. Bakteri berbentuk batang/kokus/spiral.
2. Bakteri pengikat unsur nitrogen dari udara.

Objek : - Clostridium pectinovorum, bakteri pembunuh kentang (bentuk batang).
- Treponema sp., bakteri yang terdapat dalam mulut.
- Streptokokus/Stafilokokus sp., bakteri dalam mulut atau yang terdapat pada kulit yang infeksi (nanah).
- Rhizobium sp., bakteri pengikat unsur nitrogen dari udara yang terdapat pada bintil-bintil akar kacang tanah.

Alat/Bahan :

1. Mikroskop
2. Kaca objek dan kaca penutup
3. Pipet
4. Beaker berbagai ukuran
5. Air
6. Tusuk gigi

Prosedur/Cara Bekerja

1. Untuk mendapatkan objek pertama, kentang direndam selama lebih kurang satu minggu sebelum dilakukan praktikum. Dengan menggunakan pipet diambil sedikit dari bahagian kentang yang sudah membusuk dan ditetaskan secukupnya di atas kaca objek lalu ditutup dengan kaca penutup. Lihat di bawah mikroskop. (bakteri bentuk batang)
2. Bakteri bentuk spiral diperoleh dengan jalan mengorek sela-sela gigi dengan tusuk gigi dan bahan yang terbawa melalui tusuk gigi diletakkan di atas kaca objek. Tetesi sedikit air lalu diaduk dengan tusuk gigi, selanjutnya ditutup dengan kaca penutup. Lihat di bawah mikroskop.
3. Bakteri kokus (berbentuk bulat), mungkin ditemui dari kotoran gigi, atau sedikit nanah dari bisul atau borok diambil dengan ujung tusuk gigi atau lidi kapas, dioleskan pada kaca objek diberi sedikit air dan ditutup dengan kaca penutup. Lihat di bawah mikroskop.

4. Bakteri *Rhizobium* sp., diperoleh dengan membelah bintil akar kacang tanah dan isi bintil diletakan di atas kaca objek. diberi sedikit air dan ditutup dengan kaca penutup. Lihat di bawah mikroskop.
5. Amatilah masing-masing objek di bawah mikroskop mulai dengan objektif lemah sampai dengan objektif kuat. Objek digambar dalam buku gambar sesuai dengan pengamatan dan perbesaran yang dipakai.

Kotoran gigi (mulut) berisi kuman aerob dan anerob. Kuman aerob antara lain *Stafilokokus*, *Streptokokus*, *Neiseria meningitidis*, dan *Neiseria pneumonia*.

Kuman anerob terdapat dibahagian-bahagian yang tertutup, misalnya dibelakang tonsil dan bagian belakang gigi. Kuman anerob ini jenis *Clostridium*, al. *C.perfingens* (Welchii), *C.tetani*, *C.histolyticum*.

Kuman-kuman dalam mulut dapat bekerjasama (sinergistis) sesamanya. Dan bentuk-bentuk kuman dalam mulut itu ada berbentuk koma (*vibrio*), lonjong (*fusiformis*), gelendong (*borelia*), titik/notkah (*kokus*), gelombang (*treponema*).

Morfologi Fungi Mikroskopis

Tujuan : Mengamati beberapa jenis fungi mikroskopis

- Alat :
1. Mikroskop
 2. Kaca Objek dan Kaca Penutup
 3. Pipet tetes
 4. Oese, (sengkelit, gelung inokulasi)
 5. Beaker berisi air
 6. Lampu spiritus/alkohol

- Bahan:
- a. Tempe (jamur tempe, *Rhizopus oryzae*)
 - b. Air tape (*Saccharomyces ellipsoides*)
 - c. Roti (jamur roti, *Penicillium* sp.)
 - d. Nasi basi (*Aspergillus* sp.)
 - e. Tongkol jagung basi (*Monillia sitophilia*)

Prosedur Kerja :

1. Dengan jarum oese diambil masing-masing jamur pada bahan yang telah disediakan dan diletakkan pada kaca objek. Setiap sudah mengambil objek jarum dibakar dengan api lampu spiritus agar tidak tercampur dengan jamur lain.
2. Objek ditetesi sedikit air dengan pipet.
3. Tetesan objek ditutup dengan kaca penutup.
4. Objek diamati dan digambar.

Sel Ragi

Pengamatan sel ragi melalui mikroskop.

Prosedur kerja:

1. Taburkan sejempit ragi dalam tetesan air pada kaca objek, dengan menggunakan jarum, kemudian tutup dengan kaca penutup.
2. Periksa di bawah mikroskop dengan pergandaan rendah, dan kemudian dengan pergandaan tinggi.
3. Cari benda-benda berbentuk bulat telur yang mempunyai bintil-bintil kecil. Bintil-bintil itu akan membesar dan akhirnya terlepas dari sel ragi.

Bahan diskusi :

1. Bagaimana bentuk sel ragi?
2. Dapatkah Anda menjelaskan perkembangbiakan ragi?
3. Dapatkah Anda melihat inti sel ragi?
4. Menurut dugaan Anda bagaimana cara ragi bernapas?.

7. PEWARNAAN DAN BEBERAPA TEKNIK PEWARNAAN

Pewarnaan

Mikroorganisma mempunyai bentuk dan ukuran sel sangat kecil, dan diantaranya terutama bakteri tembus oleh cahaya. Untuk itu mempelajari bentuk dan ukuran bakteri sangat sukar, makanya diperlukan pewarnaan atau pengecatan agar tampak lebih jelas.

Pewarnaan terhadap mikroorganisma haruslah menurut prosedur tertentu dan tidak sembarangan saja. Isi atau kandungan mikroorganisma terutama bakteri memberikan reaksi terhadap pewarnaan. Reaksi positif artinya zat pewarna mewarnai sel, sedangkan reaksi negatif sel tidak diwarnai akan tetapi yang diwarnai adalah latar belakang sel tersebut di mana terlihat lebih gelap dari pada sel sehingga bentuk dan ukuran sel dapat diketahui.

Kecuali mikroalgae dan beberapa bakteri tertentu (jumlahnya terbatas) mempunyai sel yang bersipat tembus cahaya sehingga sel tersebut sukar dilihat atau diteliti walaupun digunakan alat pebesar sekalipun. Hal ini disebabkan banyak di antara mikroorganisma itu tidak mempunyai butir warna. Mikroorganisma tersebut contohnya bakteri, ragi, jamur, dan lain-lain. Berbeda dengan mikroalgae, mikroalgae jelas mempunyai butir-butir atau serat bewarna di dalam selnya, sehingga keberadaan zat tersebut dijadikan bahan untuk menggolong-golongkannya, misalnya : mikroalgae hijau karena mengandung klorofil, mikroalgae biru-hijau karena ada butir fikosianin yang bewarna biru pada mikroorganisma tersebut.

Pengenalan bentuk atau morfologi mikroorganisma kecuali mikroalgae adalah melalui pengecatan atau pewarnaan. Pewarnaan (pengecatan, pulasan, pengubaran) dapat dilakukan secara langsung yaitu bersamaan dengan material bahan yang ada diambil dari objek penyelidikan. Secara tidak langsung adalah melalui biakan murni lebih dahulu, yaitu material bahan dilakukan pembenihan dalam medium tertentu.

Tujuan Pewarnaan

- a. Mempermudah melihat bentuk.
 - b. Memperjelas ukuran jasad.
 - c. Melihat struktur luar maupun struktur dalam.
 - d. Melihat reaksi mikroorganisma terhadap pewarnaan, yaitu melihat atau mengetahui sipat fisik/khemis mikroorganisma.
- Bahan pewarnaan terdiri dari senyawa kimia khusus, yaitu bereaksi dengan bagian-bagian tubuh mikroorganisma karena mengandung muatan ion positif atau negatif. Bakteri bermuatan negatif dengan zat warna bermuatan positif (dengan pH netral atau sekitar 7), maka akan terjadi reaksi.



Misalnya dengan pewarnaan metilen blue, bakteri akan nampak jelas.

Zat Warna

Zat warna dibedakan :

- A. Senyawa basa, misalnya metilen blue dengan anion Cl, SO₄, CH₃COO, COOHCOO ; safranin; merah netral.
- B. Senyawa asam, eosinat, eosin, fukhsin, fukhsin asam, merah kongo. Kationnya adalah ion Na, Ca, K, dan NH₄.
- C. Zat warna indifereen, misalnya Sudan III, Dimetil amid azo benzol, eosin metlin blue (netral)

Zat warna asam akan bereaksi cepat dengan sitoplasma, sedangkan zat warna basa akan bereaksi cepat dengan bagian inti sel.

Faktor Penentu Keberhasilan Pewarnaan

1. Fiksasi

- Sebelum diwarnai dilakukan fiksasi dengan maksud:
- melekatkan sel pada gelas objek,
 - membunuh mikroorganisma, sebab mikroorganisma yang mati lebih mudah diwarnai dari mikroorganisma hidup,
 - melepaskan granular protein sehingga terbentuk gugus NH₄ ion yang dapat bereaksi dengan gugus OH zat warna,
 - mencegah otolisis sel karena adanya enzim di dalam sel,
 - mengubah daya ikat zat warna.

Fiksasi dapat dilakukan secara fisik dan secara kimia. Fiksasi secara fisik dengan pemanasan, pendinginan, atau pengeringan. Fiksasi secara kimia umumnya dengan sabun, formalin, fenol, dan lain-lain.

2. Pelunturan warna

Pelunturan warna, maksudnya menghilangkan warna sel yang telah diwarnai, sehingga lebih kontras dan dapat dilihat di bawah mikroskop. Sel yang mudah diwarnai biasanya lebih mudah pula dilunturkan, sebaliknya yang sukar diwarnai sukar pula dilunturkan.

Ketahanan sel terhadap zat kimia dalam mikrobiologi dikenal ada mikroorganisme :

- tahan asam,
- tahan alkohol,
- tahan air, dan lain-lain.

Ketahanan ini dapat pula digunakan untuk pembeda mikroorganisma.

Zat peluntur warna dalam mikrobiologi dibedakan :

- Peluntur zat warna asam : HNO₃, HCl, H₂SO₄, campuran asam alkohol.

- Peluntur zat warna basa : KOH, NaOH, sabun, garam-garam basa.
- Peluntur zat warna lemah : alkohol, air, aseton, gliserin, minyak cengkeh.
- Garam logam berat : AgNO₃, CuSO₄, dan lain-lain.
- Garam logam ringan : Na₂SO₄, MgSO₄, dan lain-lain.

3. Substrat

Substrat berhubungan dengan kandungan sel yaitu, karbohidrat, protein, lemak, asam nukleat. Zat warna asam/basa dapat bereaksi dengan isi sel tergantung dari kandungan sel dan reaksi ini dapat cepat atau lambat. Akibat reaksi ini dikenal sel asidofilik yaitu mengikat zat warna asam. Sel basofilik yaitu sel yang mengikat zat warna basa, dan sel sudonofilik yaitu sel yang mengikat zat warna yang larut dalam lemak.

4. Intensifikasi pewarnaan

- Intensifikasi pewarnaan adalah mempercepat pewarnaan sel mikroorganisma. Mempercepat pewarnaan itu dapat secara :
- Fisik, yaitu melalui pemanasan zat warna (60-90 derajat C) dan temperatur pewarnaan di tingkatkan.
 - Kimia, yaitu zat warna terikat lebih erat di jaringan. Zat warna tersebut misalnya mordan. Mordan dibedakan mordan asam dan mordan basa. Mordan asam akan bereaksi dengan zat warna basa, misalnya tanin dan asam pikrat. Mordan basa bereaksi dengan zat warna asam, misalnya FeSO₄, K antimonium, asetil pirimidinium khlorida, dan sebagainya.

5. Zat warna penutup

Zat warna penutup diberikan pada akhir pewarnaan dengan maksud untuk membuat warna kontras pada sel mikroba yang diwarnai dan tidak menyerap warna semula. Bahan zat warna penutup itu antara lain metilin biru, safranin, eritrosin, dan lain-lain.

Jenis-jenis Pewarnaan

Jenis-jenis pewarnaan dikenal pewarnaan positif dan pewarnaan negatif. Pewarnaan positif ditujukan untuk mewarnai mikroorganisme atau jasad, sedangkan pewarnaan negatif tidak ditujukan pada pewarnaan jasad, akan tetapi terhadap latar belakang tempat sel tersebut ditempatkan. Keuntungannya dengan pewarnaan negatif ini bentuk sel secara alami jelas terlihat. Pewarnaan positif dibedakan atas pewarnaan tunggal dan pewarnaan bertingkat. Pewarnaan tunggal misalnya menggunakan zat warna metilen biru, gentian violet, safranin, atau dengan fukhsin. Pewarnaan bertingkat contohnya pewarnaan Gram, pewarnaan BTA (basil tahan asam, misalnya pewarnaan basil tbc). Untuk melihat struktur sel, spora, flagela, kapsula, dan

granula biasanya dilakukan secara pewarnaan bertingkat.

Beberapa Teknik Pewarnaan

Pewarnaan Gram

Bahan-bahan tahapan pada pewarnaan Gram ini dikenal juga dengan nama Gram A,B,C, dan D.

Gram A adalah gentian violet (G.V) terdiri dari campuran larutan jenuh gentian violet alkohol 96% sebanyak 10 cc dicampur dengan larutan fenol dalam air suling (2,5-5)% sebanyak 90 cc.

Gram A dapat juga dibuat dengan resep sebagai berikut:

R/ Gentian violet	1 gram
Fenol kristal	2 gram
Alk 96%	10 cc
Aqua ad	100 cc

Geruslah gentianviolet dengan alkohol dalam mortir (lumpang) sambil ditambah dengan fenol dan dicampur. Tambahkan air sedikit demi sedikit dengan mengaduk terus dan, dibiarkan 24 jam, kemudian saringlah. Gentian violet dapat juga diganti dengan kristalviolet atau pun metilviolet.

Gram B adalah larutan lugol yang berfungsi sebagai fiksasi G.V. Lugol dibuat dengan resep sebagai berikut:

R/ Iodium	1 gram
Kalium Iodida (KI)	2 gram
Aqua ad	300 cc

Geruslah iodium bersama-sama dengan KI hingga homogen dan tambahkan air sedikit demi sedikit, dibiarkan 24 jam, saring, dan disimpan dalam botol coklat.

Gram C adalah larutan dekolorisasi terdiri dari alkohol 96% atau etanol 95%.

Gram C dapat juga dibuat dari campuran aseton dan eter sama banyak.

Gram D adalah zat warna kontras yaitu larutan karbol fukhsin dengan resep sebagai berikut :

R/ larutan jenuh karbol fukhsin dalam alkohol	10 cc
larutan fenol 5%	90 cc

atau

R/ safranin	1 gram
alkohol 96%	4 gram
Aqua ad	100 cc

Safranin digerus dengan alkohol, dituangkan ke dalam botol, mortil berkali-kali dicuci dengan air dan airnya dimasukkan ke dalam botol, biarkan 24 jam, kemudian disaring.

Sebagai catatan, bahwa pewarnaan menurut Gram mempunyai banyak modifikasi, dan yang penting gunakanlah salah satu cara supaya mahir dalam pewarnaan tersebut. Kesalahan yang

sering ditemui adalah terjadinya pewarnaan lebih (overstaining) atau pelunturan lebih (overdecolorizing) sehingga kuman Gram positif terlihat lebih violet dan kuman Gram negatif terlihat lebih merah.

Kegiatan praktikum

Tujuan : Mengetahui kuman Gram positif dan Gram negatif, setelah dilakukan pewarnaan Gram.

Objek : Berbagai jenis kuman yang didapat atau kuman piaraan dari medium perbenihan.

Alat :

1. Jarum ose
2. Kaca objek dan kaca penutup
3. Lampu spiritus
4. Zat warna Gram
5. Bak pewarnaan
6. Air pencuci
7. Kertas saring
8. Mikroskop

Bahan : Kotoran gigi
Kotoran kuku
Biakan kuman
Dll.

Sistem pewarnaan yang sering dipakai adalah pewarnaan dari Gram. Pewarnaan Gram melalui langkah-langkah sebagai berikut.

1. Fiksasi
2. Pelunturan warna
3. Pemberian warna substrat
4. Intensifikasi warna
5. Pewarnaan penutup

Atas dasar pewarnaan Gram, maka dikenal ada kuman yang Gram positif dan Gram negatif.

Bahan yang akan diperiksa, misalnya kotoran gigi dioleskan pada kaca objek dan difiksasi dengan nyala api spiritus (dilakukan di atas nyala api). Lalu dilakukan tahap-tahap pewarnaan sebagai berikut.

Pewarnaan Gram dilakukan melalui tahapan, yaitu :

- a. Tahapan Pewarnaan Awal
Perlakuannya adalah pemberian kristal violet (Gram A) selama 30 detik dan hasilnya untuk kuman Gram positif akan bewarna ungu dan juga kuman Gram negatif akan bewarna ungu.
- b. Tahapan Mordan
Perlakuan yang diberikan adalah pemberian larutan iodium (Gram B) selama 30 detik, dan hasil terhadap kuman Gram positif maupun kuman Gram negatif adalah warnanya tetap.

- c. Tahapan dekolonisasi
Perlakuan yang diberikan adalah pemberian etanol 95% (Gram C) selama 10-20 detik. Hasilnya terhadap kuman Gram positif warna tetap, sedangkan kuman Gram negatif tidak bewarna.
- d. Tahapan pemberian zat warna lawan
Perlakuan adalah memberikan safranin (Gram D) 20-30 detik. Kuman Gram positif akan bewarna ungu muda sedangkan kuman Gram negatif akan bewarna merah.

Pewarnaan Bakteri Tahan Asam

Penemuan Basil Tahan Asam (BTA) dahak dapat dikerjakan melalui pemeriksaan mikroskopik langsung atau kultur. Untuk mendapatkan BTA dalam dahak diperlukan jumlah kuman sekitar 5.000 kuman/ml dahak, sementara untuk memperoleh BTA dalam dahak melalui kultur dibutuhkan jumlah kuman 50-100 kuman/ml dahak.

Dahak akan mengandung BTA apabila bronkhus telah terlibat kena infeksi.

Penemuan BTA dengan pemeriksaan mikroskopik langsung sediaan dahak menggunakan teknik pewarnaan Kinyoun-Gabbet.

Untuk mendapatkan hasil yang akurat diperlukan rangkaian kegiatan yang baik, mulai dari pengumpulan material (dahak), pembuatan sediaan, pengolahan dan pewarnaan sediaan, pembacaan dan pelaporan hasil sediaan di bawah mikroskop.

Pengumpulan Material (dahak)

Dahak yang dikumpulkan dapat dahak semalam, dahak pagi hari, dahak sewaktu. Biasanya yang lebih baik adalah dahak pertama dan kedua. Untuk mendapatkan hasil yang diharapkan teknik pengeluaran dahak haruslah benar. Pertama-tama penderita diminta untuk berkumur-kumur lebih dahulu. Kemudian dengan posisi duduk atau berdiri agak condong ke depan, penderita diminta menarik napas sedalam-dalamnya dan membatukannya sekuat-kuatnya sampai terasa ada dahak yang terbatukan keluar dari dada (bukan dari tenggorokan). Dahak ditampung dalam suatu wadah yang bersih dan tidak mudah pecah.

Pembuatan Sediaan dan Teknik Pewarnaan

Dahak kental bewarna kekuningan serta kehijauan mengandung pus atau darah diambil sedikit dengan sengkeli, yang sebelumnya telah dibakar sampai berpijar. Dahak kemudian diratakan di atas kaca objek dengan ukuran sekitar 2-3 cm; apusan diusahakan tidak terlalu tebal atau terlalu tipis. Setelah dikeringkan dengan suhu kamar, apusan dahak perlu direkatkan dengan cara menggerak-gerakan kaca objek di atas lidah apai secara cepat sebanyak 3 kali selama 3-5 detik. Sediaan telah siap untuk diwarnai dengan larutan Kinyoun-

Gabbet.

Larutan Kinyoun:

Fuchsin basa	3,333 g
Fenol kristal	6,667 g
Alkohol 95%	16,667 ml
Akuades	83,333 ml.

Larutan Gabbet:

Biru metilen	2,0 g
Asam sulfat 95-97%	25,0 ml
Akuades sampai	100,0 ml.

Langkah kerja adalah pertama-tama larutan Kinyoun dituangkan pada sediaan yang telah direkatkan sampai menutupi seluruh permukaan sediaan selama 3-5 menit. Sediaan kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan semua larutan Kinyoun. Warna merah larutan Kinyoun perlu dibuang dengan menuangkan alkohol asam sampai tidak ada warna merah yang dilepaskan oleh sediaan. Selanjutnya larutan Gabbet dituangkan dengan cara seperti di atas selama 1-3 menit. Sediaan kembali dicuci dengan air mengalir. Setelah itu sediaan dikeringkan.

Pembacaan dan Pelaporan Hasil

Sediaan yang sudah diwarnai dan telah kering ditetesi dengan minyak emersi satu tetes untuk diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran objektif 100 x dan okuler 10 x. Dengan teknik pewarnaan Kinyoun-Gabbet, BTA terlihat berwarna merah serta berbentuk batang dengan dasar berwarna biru. Pemeriksaan dilakukan secara zig-zag pada sekurang-kurangnya 10 lapangan pandang.

Hasil yang ditemui dilaporkan menurut International Union Against Tuberculosis (IUAT) sebagai berikut:

- Tidak ditemui BTA dalam 100 lapangan pandangan: 0.
- Ditemukan 1-9 BTA/100 lapangan pandang: ditulis jumlah yang ditemukan.
- Ditemukan 10-99 BTA/100 lapangan pandangan : +
- Ditemukan 1-10 BTA/1 lapangan pandang: ++
- Ditemukan lebih dari 10 BTA/1 lapangan pandang: +++

Pewarnaan Metilen Biru

Tujuan : Mengamati bentuk kuman setelah dilakukan pewarnaan M.B

Objek : Berbagai jenis kuman yang terdapat di dalam

bahan.

Alat :

1. Jarum Oese
2. Kaca objek dan kaca penutup
3. Lampu spiritus
4. Zat warna M.B
5. Bak pewarnaan
6. Kertas saring
7. Air
8. Mikroskop

Bahan: Kotoran gigi
Kotoran kuku
Air got

Prosedur atau cara mengerjakan :

1. Bahan dioleskan di kaca objek
2. Difiksir di atas nyala api 3x (sampai kering)
3. Diwarnai dengan larutan M.B selama 3 menit
4. Dicuci dengan air
5. Dikeringkan
6. Amati dibawah mikroskop dan digambar.

Pewarnaan dengan metilen biru (MB) lebih bertujuan menyatakan adanya jasad renik. Pewarnaan MB ini lebih cepat dan tepat. MB yang dipakai adalah menurut Loeffler, yaitu metilen biru 0.3 gr; alkohol 95% 30 ml; larutan KOH 10% 0,1 ml; aqua dest 100 ml. Metilen biru digerus dalam mortir bersama alkohol, dan dipindahkan ke dalam botol. Lalu ditambahkan KOH kepada isi botol itu dan kemudian pakailah isi botol untuk berkali-kali mencuci mortir yang dimasukan kembali ke dalam botol. Larutan ini dibiarkan 24 jam dan disaring sebelum dipakai.

Prosedur pewarnaan dilakukan sebagai berikut.

- Sediaan direkatkan dengan nyala api.
- Warnai dengan larutan metilen biru selama 0,5-3 menit.
- Cuci dengan aqua dest, keringkan dan diperiksa.

Sebagai catatan, lamanya pewarnaan ditentukan oleh tebalnya sediaan. Dalam pewarnaan ini bentuk-bentuk badan sel lebih jelas.

DEPARTMENT OF THE ARMY

WASHINGTON, D. C.

8. M E D I U M (A)

Untuk menumbuhkan dan mengembangbiakan kuman diperlukan substrat yang disebut media (jamak), atau media perbenihan. Media sebelum digunakan harus dalam keadaan steril bebas kuman agar kuman yang tidak diharapkan tidak bertumbuh pada media tersebut.

A. Macam-macam Media

Media dikenal beberapa macam, yaitu media alami (kentang, daging, telur, wortel, taube, nasi, tape dan lain-lain); media buatan (seluruhnya dibuat dari senyawa kimia organik atau anorganik). Di samping itu dapat juga dibuat media semi buatan, yaitu medium yang dibuat dari campuran bahan-bahan kimia dan bahan alami.

Syarat-syarat bagi media untuk dapat kuman tumbuh dan berkembangbiak adalah:

1. Di dalam media harus terdapat semua unsur atau hara yang diperlukan oleh mikroorganisma untuk tumbuh dan berkembangbiak.
2. Media harus mempunyai tekanan osmosis dan tekanan permukaan serta pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroorganisma.
3. Media harus dalam keadaan steril.

B. Bentuk Media

Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya zat pematid. Zat pematid biasanya dipakai adalah tepung agar-agar, gelatin, dan lain-lain. Berdasarkan bahan tersebut dalam media, maka media dibedakan sebagai berikut.

1. Media Padat

Media padat berisi 12-15 gr tepung agar/1.000 cc media. Media keperluan mikroorganisma yang butuh kadar air banyak, maka kadar tepung agarnya direndahkan; sedangkan mikroorganisma yang membutuhkan kadar air sedikit kadar tepung dapat ditingkatkan jumlahnya. Media padat biasanya digunakan untuk perbenihan ragi, jamur, mikroalgae, dan bakteri.

2. Media Cair

Pada media cair zat pematid tidak ditambahkan. Media ini digunakan untuk mikroalgae dan kadang-kadang juga untuk bakteri dan ragi.

Contoh media cair ini adalah Kaldu Nutrisi dengan komposisi sebagai berikut.

Air Kaldu 1.000 ml
Pepton 5 gr

3. Media Semi solid atau Semi cair
Penambahan zat padat hanya sedikit yaitu kurang dari 50% dari yang seharusnya. Biasanya digunakan untuk mikroorganisme yang memerlukan kandungan air yang banyak atau mikroorganisme yang hidup anaerobik/fakultatif.

C. Susunan Media

Untuk susunan media diperlukan unsur hara yang berfungsi bagi fisiologis kuman. Susunan media pada umumnya mempunyai isi yang sama, yaitu:

- ada kandungan air,
- kandungan nitrogen yang berasal dari protein, asam amino, atau senyawa lain yang mengandung N.
- kandungan sumber energi, yaitu mengandung unsur karbon dari karbohidrat, lemak, protein, atau senyawa-senyawa lain,
- faktor pertumbuhan, berupa senyawa vitamin-vitamin.

Atas syarat-syarat tersebut di atas, maka susunan media itu dapat berbentuk:

1. Media alami

Media alami yang sering digunakan adalah kentang, tepung, daging, telur, ikan, umbi-umbian, dan sebagainya.

Untuk kultur jaringan tanaman atau hewan, media alami banyak dipakai. Misalnya untuk perbenihan virus dipakai telur.

2. Media sintetis

Untuk media ini digunakan campuran senyawa-senyawa kimia, misalnya untuk *Clostridium* digunakan :

K ₂ HPO ₄	0.5
KH ₂ PO ₄	0.5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.1
NaCl	0.1
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01
MnSO ₄ .7H ₂ O	0.01
CaCO ₃	sedikit (seangin)

3. Media semi sintetis
Media ini adalah campuran media alami dan bahan sintetis. Misalnya:

Kaldu nutrisi untuk bakteri	
pepton	10.0 gr
ekstrak daging	10.0 gr
NaCl	5.0 gr
Aqua	1.000 cc

Tauge agar, untuk jamur atau ragi	
tauge (ekstrak/rebusan/gilingan)	100.0 gr
sukrose	60.0 gr
aqua	1.000 cc
agar	15.0 gr

Wortel agar, untuk ragi dan beberapa jenis jamur,	
wortel (ekstrak berupa rebusan/gilingan)	1.000 gr
CaSO ₄	20 gr
agar	40 gr
aqua	200 cc

D. Sifat dan Kegunaan Media

Dalam hal ini berkaitan dengan spesifikasi atau sipat tertentu dalam penggunaannya. Media di samping untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme; juga digunakan untuk isolasi, seleksi, evaluasi, dan diferensiasi kuman. Dalam hal itu dikenal :

1. Media Umum

Media umum adalah media yang umum dipakai untuk menumbuhkan mikroorganisma. Berbagai mikroorganisma dapat tumbuh dalam media ini. Misalnya : agar nutrisi untuk pertumbuhan bakteri, agar kentang dekstroza atau agar toge dapat digunakan bagi penumbuhan jamur. Bahan media tersebut adalah:

Agar Nutrisi/Kaldu Nutrisi (untuk bakteri)	
Daging tanpa lemak	500 gr
Pepton	5 gr
Agar-agar	15 gr
Aqua dest.	1000 ml

Agar Kentang Dekstroza, AKD/Potato dextrose agar, PDA	
Kentang yang bagus	200 gr
Dekstroza	10 gr
Agar-agar	15 gr
Aqua dest.	1000 ml.

2. Media Pengaya

Media pengaya, maksudnya media tersebut 'memberikan kesempatan' terhadap mikroorganisme tertentu untuk tumbuh dan berkembang biak dengan cepat dibandingkan dengan mikroorganisme lain walaupun sama-sama dimasukkan dalam medium tersebut. Misalnya, kuman Salmonella dalam tinja. Di dalam tinja terdapat puluhan mikroba, akan tetapi untuk mengenal Salmonella khusus dipakai kaldu selenit atau kaldu tetrasonat. Dalam kaldu ini mikroba lain tumbuhnya terhambat, akan tetapi kuman Salmonella dalam waktu 18-22 jam bertumbuh dengan cepatnya.

3. Media Selektif

Media selektif hanya dapat ditumbuhi oleh satu atau beberapa jenis kuman saja. Misalnya, terhadap kuman Shigella atau Salmonella tumbuh dalam media WB agar (Wismuth Blair).

Untuk memisahkan koloni Escherecia coli, sering dipakai media Agar Eosin Metilen Biru (Agar EMB) dengan komposisi sebagai berikut.

Pepton	10,0	gr
Laktosa	10,0	gr
K ₂ HPO ₄	2,0	gr
Eosin	0,4	gr
Metilen biru	0,065	gr
Agar-agar	15,0	gr
Aqua dest.	1.000,0	ml

4. Media Diferensial

Untuk mikroorganisma tertentu dengan sifat-sifat tertentu memerlukan media khusus pula. Misalnya media agar darah untuk bakteri hemolitik. Bakteri non hemolitik di dalam agar darah tidak akan dapat hidup.

5. Media Penguji

Menguji sesuatu senyawa dengan bantuan mikroorganisma. Misalnya menguji vitamin, asam amino, antibiotika, residu pestisida, residu detergen, dan lain-lain. Media disusun dari bahan dasar ditambah dengan bahan yang akan diuji.

6. Media Perhitungan

Untuk menghitung jumlah mikroba pada satu bahan diperlukan media perhitungan. Media ini dapat media umum, media selektif, media diferensial, atau pun media penguji.

Di dalam laboratorium, sebelum digunakan medium yang sudah steril baik itu medium cair maupun padat hendaknya disimpan dulu dalam tabung-tabung gelas (beaker, erlenmeyer, tabung reaksi, botol, dan lain-lain).

Pembuatan media, terutama media semi alami dan media buatan adalah melalui pencampuran bahan-bahan dasarnya. Pencampuran tersebut ada yang memerlukan panas dan ada yang dapat larut atau tercampur dalam keadaan biasa (temperatur kamar). Sterilisasi media dilaksanakan dengan memperhatikan sifat-sifat bahan pembentuk media. Bahan-bahan alami yang digunakan seperti kentang, toge, wortel, daging, dan sebagainya biasanya dalam bentuk ekstrak. Pada pencampuran bahan atau zat kimia lainnya perlu dihindari terbentuknya endapan atau emulsi yang dapat mengganggu pengamatan.

F. Pembuatan dan Penyimpanan Media

Di antara unsur di atas terdapat sejumlah unsur makro yaitu jumlah yang diperlukan lebih banyak; dan unsur mikro yaitu jumlahnya di dalam sel diperlukan adalah terbatas. Yang termasuk ke dalam unsur makro adalah O.C.H.N.P, dan S. Unsur-unsur mikro adalah Cl, K, Na, Mg, I, dan Fe.

Unsur	Fungsi Fisiologik
H	Bahan dasar air sel dan materi organik.
O	sda.
	O ₂ sebagai aseptor elektron dalam respirasi.
C	Bahan dasar materi sel.
N	Bahan dasar protein, as.nukleat koenzim.
S	Bahan dasar protein, dan bhp koenzim.
P	Bhn. dasar as. nukleat, fosfolipid, koenzim.
K	Kation anorganik utama dalam sel, dan kofaktor beberapa koenzim.
Mn	Bahan pengganti Mg, dan kofaktor anorganik.
Mg	Kation sel utama, kofaktor. bahan dasar khlorofil.
Ca	Kation sel utama, kofaktor.
Fe	Bahan dasar sitokrom, heme, kofaktor beberapa enzim
Co	Bahan dasar vit. B12, derivat koenzim.

E. Fungsi Senyawa dalam Media bagi Mikroorganisma

Penyimpanan harus dalam keadaan steril. Penyimpanan dalam jumlah sedikit (10-15 ml) cukup dengan tabung reaksi sebagai agar diri yang digunakan untuk mengisi cawan petri. Atau sekitar 5-7 ml digunakan sebagai agar miring yang dapat digunakan untuk menanam biakan. Agar miring dibuat dengan jalan memiringkan tabung reaksi berisi medium setelah disterilkan sebelum medium menjadi padat.

G. Contoh-contoh pembuatan medium

* Media Umum (Agar Nutrisi/Kaldu Nutrisi)

Bahan:

daging tanpa lemak	500 gr
pepton	5 gr
agar-agar	15 gr
akuadest	1.000 ml

Cara kerja

- Daging dibersihkan dari lemak dan dicuci bersih
- Daging dimasak dengan akuades sebanyak 1 liter, dan dibiarkan mendidih selama 25 menit.
- Air daging (kaldu) disaring, dan filtratnya disimpan dalam almari pendingin (refrigator) selama 24 jam. Endapan yang terbentuk dibuang, dan kaldu yang ada dicairkan dan disaring kembali.
- Pepton dan agar dilarutkan secara rata dalam kaldu, dan dimasukkan ke dalam tabung-tabung reaksi sesuai dengan kebutuhan. Tabung-tabung ditutup dengan kapas, dan sumbat kapas jangan terlalu kencang dan jangan pula longgar.
- Tabung-tabung reaksi yang berisi kaldu disterilkan dengan autoklaf (panas 121 derajat C, tekanan 15 lbs) selama 15 menit.
- Media siap untuk digunakan

* Medium Selektif

Medium agar EMB

Susunan/komposisi seperti pada D.3

Cara pembuatannya

- Semua bahan pada D.3 dilarutkan dalam air suling (akuades) satu per satu.
- Setelah selesai masing-masing semuanya, campurkanlah keseluruhannya, dan tuangkan ke dalam tabung-tabung reaksi sesuai dengan kebutuhan dan sumbat dengan kapas.
- Sterilkan dengan autoklaf (125 derajat C, 15 lbs).

9. MIKROBA AIR, MIKROBA SUSU DAN MIKROBA UDARA

Bakteri Air Minum

1. Persiapan contoh uji

- a. Contoh uji harus dimasukkan ke dalam botol steril
- b. Pengotoran/kontaminasi dari luar harus dicegah selama dan sesudah pengambilan contoh.
- c. Contoh harus segera diperiksa sesampai di laboratorium.
- d. Bila belum sempat diperiksa harus disimpan dalam lemari es (suhu 0-10 derajat C).

2. Jumlah bakteri

Contoh yang akan diperiksa harus dikocok terlebih dahulu agar tercampur rata dan selanjutnya dilakukan kegiatan sebagai berikut.

- a. Ke dalam empat buah piring Petri dipipet berturut-turut 1 ml contoh.
- b. Buat pengenceran 1:10 dengan cara memipet 10 ml contoh dimasukkan ke dalam botol pengencer (erlenmeyer) yang berisi 90 ml larutan NaCl 0.9% steril dan sambil dikocok.
- c. Dari botol pengencer 1:10 dipipet pula 10 ml ke dalam botol pengencer lain berisi NaCl 0.9% steril dan juga dikocok sehingga didapat pengenceran 100.
- d. Demikian seterusnya pengenceran 1000, 10.000, dan 100.000 kalau diperlukan.
- e. Dari masing-masing botol pengenceran dipipet berturut-turut 1 ml contoh ke dalam empat piring Petri. (Pengenceran 10, 100, 1000,) dipipet masing-masing contohnya 1 ml ke dalam empat piring Petri.
- f. Ke dalam semua piring Petri (16 buah) ditambahkan masing-masing 10-15 ml nutrient agar sambil digoyang-goyang dan kemudian dibiarkan dingin dan membeku. Setelah membeku piring Petri dibalik.
- g. Dua piring Petri untuk masing-masing pengenceran dan dua yang tidak diencerkan dieram selama 48 jam pada suhu kamar (20-25 derajat C), sedangkan sisanya dieramkan pada suhu 35 derajat C selama 24 jam. Sebagai kontrol (blanko untuk 1 ml NaCl 0.9% steril ditambah dengan nutrient agar) juga dibuat.
- h. Koloni yang terdapat pada piring setelah dieram dihitung dengan mengambil sekurangnya dua piring petri dengan jumlah koloni antara 30-300.
- i. Cara penghitungan adalah sebagai berikut.

RECEIVED
MAY 19 1964
U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE
WASHINGTON, D.C.

Pengaruh Cairan Pengencer Pada Perbenihan

Tujuan: Melihat pengaruh cairan pengencer terhadap perbenihan mikroba air.

Alat/Bahan :

1. Tabung reaksi steril
2. Cawan petri berisi media kaldu-agar
3. Gelas ukur
4. Pipet
5. Alkohol 60%
6. Air sumur pompa
7. Akuades steril

Prosedur kerja:

- a. Tiga buah tabung reaksi steril, kedalamnya masing-masing diisi air kolam ikan.
- b. Air dari tabung pertama diencerkan dengan akuades steril sampai konsentrasinya 10^{-5} , air dari tabung kedua diencerkan dengan menggunakan air sumur pompa sampai konsentrasi 10^{-5} , dan air dari tabung ketiga diencerkan sampai 10^{-5} dengan larutan alkohol 60%.
- c. Hasil pengenceran ditanamkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media kaldu agar.
- d. Amati, teliti, dan catat apa yang akan terjadi pada ketiga cawan sampai hari ke-7. Diskusikan dan terangkan sebab-sebabnya.

Mikroba dalam Susu

Tujuan : Melihat macam-macam mikroba dalam susu

Alat/bahan:

1. Tabung reaksi steril
2. Susu segar, susu bubuk, dan susu kental manis
3. Akuades
4. Cawan petri berisi media kaldu agar
5. Pipet
6. Gelas ukur

Prosedur percobaan:

- a. Kedalam tabung reaksi steril pertama dimasukan 1 sendok teh susu segar. Kedalam tabung kedua 1 sendok teh susu bubuk, dan ke dalam tabung ketiga 1 sendok teh susu kental manis.
- b. Masing-masing tabung diencerkan sampai konsentrasinya 10^{-5}
- c. Masing-masing pengenceran ditanamkan ke dalam cawan petri berisi media agar kaldu.
- d. Cawan-cawan dieramkan, diamati dan diteliti apa yang terjadi, dan didiskusikan mengapa hal tersebut terjadi.

Estimasi Kontaminasi Bakteri Pada Susu

Tujuan: Menentukan kualitas susu berdasarkan kontaminasi bakteri

Bakteri dalam susu

Susu adalah makanan yang mendekati sempurna (perfect food) bagi manusia dan juga merupakan medium terbaik (excellent) untuk tumbuhnya bakteri. Dari itu penjagaan susu terhadap kontaminasi bakteri sangat diperlukan. Jika susu sebagian telah digunakan seperlunya, tidak jarang sisanya akan mengalami kontaminasi, apabila tidak disimpan pada tempat yang dingin dalam memperlambat pertumbuhan kuman yang mengkontaminasi. Untuk itu perlu dilakukan estimasi terhadap berbagai susu yang ada terhadap adanya bakteri dalam susu.

Bakteri yang ada dalam susu akan mengkonsumsi oksigen yang terdapat dalam susu. Reduksi oksigen dalam susu dapat dideteksi dengan metilen biru. Tidak adanya warna atau berkurangnya warna metilen biru sebagai tanda tidak adanya oksigen. Makin banyak bakteri makin cepat hilangnya warna biru.

Kualitas susu tergantung dari jumlah keberadaan bakteri didalamnya, dan ini ditunjukkan oleh kecepatan waktu untuk membuat larutan metilen biru mengalami dekolorisasi oleh bakteri tersebut.

Waktu untuk dekolorisasi	Tingkat/kualitas susu
kurang dari 20 menit	Kontaminasi hebat
20 menit - 2 jam	kurang baik
2 jam - 5,5 jam	sedang
5,5 jam - 8 jam	baik
lebih dari 8 jam	sangat baik

Alat/bahan

1. Tabung reaksi
2. Larutan metilen biru
3. Water bath
4. Termometer dan pipet tetes
5. Kapas sumbat tabung reaksi
6. Beberapa macam contoh susu dalam berbagai keadaan (susu segar, susu yang telah terbuka, susu terbuka dalam refrigerator 1 hari, 2 hari, tiga hari atau lebih, susu bubuk, dan sebagainya).

Prosedur/tatakerja:

- a. Isikanlah contoh-contoh susu ke dalam tabung reaksi sebanyak 1/3 tabung masing-masingnya, dan beri label.
- b. Teteskan kedalam masing-masing tabung reaksi 1 ml (20 tetes) larutan metilen biru.
- c. Sumbatlah tabung reaksi dengan kapas, dan tabung reaksi ditempatkan pada water bath dengan suhu 37 derajat C.
- d. Catatlah waktu saat hilangnya warna pada masing tabung.

Untuk dipikirkan dan didiskusikan:

- Tuliskanlah dengan ringkas bagaimana pasteurisasi susu itu.
- Apa pentingnya bakteri asam laktat dalam susu.

Mikroba Udara

Tujuan: Anda akan melihat jumlah nisbi mikroba udara yang terdapat di sekitar gedung Anda.

Alat/Bahan:

1. Cawan petri berisi agar makanan steril
2. Pensil gelas

Prosedur kerja:

- a. Masing-masing regu membawa cawan petri berisi agar makanan steril ke lokasi tempat menangkap contoh udara. Cawan tetap dalam keadaan tertutup (belum boleh dibuka). Identitas cawan pada alas luar ditulis dengan spidol (Nomor regu).
- b. Sesampai di tempat yang ditentukan, masing-masing regu membuka tutup cawan petri dengan cermat, sehingga udara kontak dengan agar makanan; lamanya kontak harus sama, misalnya 5 menit. (penting diperhatikan oleh tiap regu).
- c. Setelah waktu lima menit, cawan ditutup rapat kembali dan dibawa kembali ke laboratorium. Cawan diletakan terbalik (mengapa?), disusun dalam inkubator, dan dieramkan selama tiga atau empat hari.
- d. Koloni mikroba dihitung jumlahnya dengan menggunakan alat penghitung koloni.
- e. Bedakanlah koloni jamur dengan koloni bakteri secara makroskopis; dan bandingkan koloni regu Anda dengan koloni-koloni regu teman Anda yang lain. Koloni jamur akan terlihat seperti kapas atau benang kusut dan biasanya lebih besar dari koloni bakteri.
- f. Diskusikanlah berdasarkan data kelas di tempat mana terdapat populasi mikroba terbanyak atau terkecil, dan berilah penjelasan tentang itu.

10. PEMERIKSAAN BAKTERI COLI DAN BEBERAPA PERCOBAAN

Coliform

Tujuan: Mengetahui adanya coliform bacteria dalam air

Prinsip:

Untuk mengetahui atau mengetahui adanya bakteri coli ada bermacam cara. antara lain dalam praktikum ini menggunakan 'multiple tube fermentation technique', yaitu:

- a. presumptive test (tes penduga)
- b. confirmed test (tes penentu)
- c. completed test (tes penyempurna/pelengkap)

Persumptive test

Contoh air dimasukkan dalam kaldu laktosa dieramkan dengan suhu 37 derajat C selama 24 atau 48 jam. Apabila ada pembentukan gas, tes duga positif (+), dan apabila tidak terbentuk gas, tes duga negatif (-).

Confirmed test

Apabila tes duga (+), maka contoh air dari tabung yang positif dibiakkan ke dalam cawan endo dan cawan eosin-metilenbiru (EMB), serta dalam tabung kaldu empedu laktosa brilliant hijau (brilliant green lactose bile broth (BGLBB)). Perbenihan dalam cawan endo dan cawan EMB dieramkan dalam suhu 37 derajat selama 24 jam, sedangkan yang dengan tabung BGLBB dieramkan dalam 48 jam. Apabila perbenihan dalam cawan endo (+) yaitu terbentuk koloni merah dan dalam cawan EMB (+) terbentuk koloni hijau metalik, maka dilanjutkan dengan tes berikut completed test. Begitu juga setelah dalam 48 jam terbentuk gas dalam kaldu BGLBB, maka tes dilanjutkan dengan completed test.

Completed test

Tes penyempurnaan dilakukan bagi tes penentu (+), yaitu terbentuk koloni merah dalam cawan endo, koloni hijau metalik pada cawan EMB, dan terbentuknya gas pada kaldu BGLBB. Tes penyempurnaan menggunakan mediaum agar miring dan fermentasi pada kaldu laktosa, dengan pengeraman 37 derajat C selama 24 atau 48 jam. Tes akan (+) apabila dalam perbenihan agar miring akan ditemui kuman batang Gram negatif tidak membentuk spora, atau pun dengan kaldu laktosa terbentuk gas.

Alat dan bahan :

1. Tabung fermentasi dengan kaldu laktosa standar (0.5%

- laktosa).
2. Medium kultur endo dan kultur EMB dan kaldu BGLBB dengan tabung fermentasi.
 3. Agar miring (agar slant).
 4. Inkubator
 5. Cairan atau air contoh.
 6. Bahan pewarna Gram

Prosedur kerja

1. Presumptive test
 - a. Lima tabung fermentasi dengan kaldu laktosa (lactose broth) masing-masingnya ditambahkan 10 ml contoh air.
 - b. Tabung dieramkan dalam 24 jam dengan suhu 37 derajat c. Setelah 24 jam periksa tabung-tabung apakah ada pembentukan gas dalam tabung kecil. Jumlah tabung dengan pembentukan gas dicatat.
 - d. Adanya pembentukan gas berarti tes duga (+), dan tidak ada gas tes duga (-). Pembentukan gas dapat juga oleh sel ragi atau oleh Clostridium perfringens (spore forming).
 - e. Eramkan terus sampai 48 jam dengan suhu 37 derajat C. Apabila setelah 48 jam, gas baru terbentuk maka tes duga menjadi ragu-ragu hasilnya. Apabila tidak ada gas maka tes duga negatif (-).
2. Confirmed test
 - a. Dari tabung-tabung fermentasi dengan pembentukan gas masing-masing; atau dari tabung fermentasi dengan dua pengenceran tertinggi diambil dengan ose kultur kaldu laktosa tersebut. Kemudian bahan yang diambil ini dihapuskan pada medium kultur endo, medium kultur EMB, serta ditanam kedalam kaldu BGLBB pakai tabung fermentasi.
 - b. Cawan kultur endo, cawan kultur EMB dieramkan selama 24 jam dengan suhu 37 derajat C; sedangkan tabung fermentasi kaldu BGLBB dieramkan 48 jam dengan suhu 37 derajat C.
 - c. Amati koloni dalam cawan endo dan cawan EMB setelah 24 jam. Apabila ada koloni merah (tes +) atau koloni tidak khas bentuknya dalam cawan endo, maka dilanjutkan dengan tes penyempurnaan (completed tes). Demikian pula pada cawan EMB apabila pada pengamatan ada koloni hijau metalik (test +) atau koloni bentuknya tidak khas, maka dilanjutkan dengan tes penyempurnaan. Begitu juga dengan tabung fermentasi kaldu BGLBB ada pembentukan gas atau tidak terbentuk gas tetapi terjadi perubahan warna, maka dilanjutkan dengan tes penyempurnaan.
3. Completed tes
 - a. Koloni merah/tidak khas dari cawan endo; koloni hijau

- metalik/tidak khas dari cawan EMB serta adanya pembentukan gas/perubahan warna dari kaldu BGLBB. masing-masingnya ditanamkan dalam agar slant dan kaldu laktosa dalam tabung fermentasi; semuanya dieramkan selama 24-48 jam dengan suhu 37 derajat C.
- b. Apabila dalam kaldu laktosa terbentuk gas, dan koloni pada agar slant dapat dibuktikan basil Gram negatif tanpa pembentukan spora, maka confirmed test positif. Sebaliknya gas tidak ada, dan tidak dapat dibuktikan adanya basil Gram negatif tanpa pembentukan spora, maka completed test negatif.
 - c. Kalau ada gas dalam kaldu laktosa dan koloni pada agar slant menunjukkan basil yang membentuk spora, maka tes dilanjutkan dengan perbenihan lain, yaitu misalnya dengan formate ricinoleate broth selama 48 jam dengan suhu 37 derajat C. Tes positif apabila setelah 48 jam ada pembentukan gas, dan koloni pada agar slant tidak membentuk spora.

Perbenihan Kuman dan Percobaan Sederhana

Tujuan: Melakukan pengamatan pada berbagai kondisi dari media sederhana.

Objek : Mikroorganisma dalam air selokan/got

Alat :

1. 10 buah tabung reaksi bersih
2. Pipet tetes
3. Beaker / ember kecil tempat air got
4. Lumpang dan alat penggiling (lumpang + alu)
5. Kompor masak beserta periuk
6. Pipet ukur/ gelas ukur 10 ml
7. Pisau / alat pemotong
8. Saringan
9. Botol bermulut lebar atau cawan petri 4 bh

Bahan :

1. Agar 15 gr
2. Toge 100 gr
3. Kentang 200 gr
4. Asam laktat/ cuka 2%, 5%, 8%, masing 10 ml
5. Beras

Prosedur atau cara melakukan:

Percobaan 1

1. Membuat media agar toge atau agar kentang.
 - a. Kentang/toge masing-masingnya dicuci bersih dan

- dipotong kecil-kecil dimasak selama lebih kurang 1 jam. Volume air dijaga tetap dengan menambahkan air suling (aquadest).
- b. Disaring, dan ke dalam filtrat dimasukkan agar-agar sampai larut dengan baik. Didapatkan media agar kentang dan agar toge.
 2. Sediakan 5 tabung reaksi bersih masing-masing untuk agar toge dan agar kentang.
 3. Ke dalam masing-masing tabung dimasukkan 6 ml agar toge atau agar kentang, dan dibuat menjadi agak miring.
 4. Ke dalam tabung pertama ditambahkan 2 ml larutan asam laktat (kalau tidak ada asam cuka) 2%, tabung kedua 5%, tabung ketiga 8%, tabung keempat 10%, dan tabung kelima tidak diberi larutan asam (kontrol).
 5. Kedalam tiap tabung di atas diteteskan 1 tetes air got (setelah disaring agar kotorannya tidak ikut).
 6. Lakukanlah pengamatan apa dan bagaimana yang terjadi ditiap tabung tersebut pada hari ke-2, ke-3, ke-4, dan ke-5.
 7. Diskusikan dengan teman hasil pengamatan Anda.

Percobaan 2

1. Sediakan empat buah botol mulut lebar atau cawan petri.
2. Kedalam botol pertama dimasukkan beras
3. Kedalam botol kedua dimasukkan beras yang sudah dipanaskan selama 10 menit pada suhu 90-95 derajat C.
4. Kedalam botol ketiga dimasukkan beras biasa dan sedikit air bersih.
5. Kedalam botol keempat beras seperti botol kedua dan kemudian sedikit air bersih
6. Lakukanlah pengamatan dan pencatatan kejadian yang terjadi pada tiap botol pada hari ke-5, ke-8, ke-11, dan ke-14.
7. Diskusikan hasil pengamatan dengan teman-teman Anda.

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

PHYSICS DEPARTMENT

CHICAGO, ILLINOIS

11. AMOEBIA PROTEUS DAN PARAMECIUM

Amoeba proteus

Tujuan : Mengamati salah satu jenis protozoa, yaitu Amoeba proteus

Alat : 1. Mikroskop biologi
2. Kaca objek dan kaca penutup
3. Botol selai (tutup plastik)
4. Cawan petri
5. Pipet tetes
6. Gelas ukur
7. Gelas piala
8. Alkohol 70%

Bahan : Air dasar kolam, genangan air, sawah, air dasar akuarium.

Prosedur kerja:

1. Ambillah air dari tempat yang diduga mengandung Amoeba (dasar kolam, genangan air, sawah dan lain-lain) dimasukkan kedalam gelas piala atau botol selai. Hewan ini hidup pada bagian dasar, dan dapat juga menempel pada daun yang terendam air. Air disedot dengan pipet air.
2. Air dibiarkan mengendap selama 10 menit. Dari dasar air diambil dengan pipet tetes.
3. Teteskan beberapa tetes pada kaca objek, tanpa ditutup dengan kaca penutup amati dengan mikroskop menggunakan objektif lemah 4x atau 10 x. (hati-hati jangan tetesan pada kaca objektif sampai menyentuh lensa objektif). Diafragma jangan terlalu besar, karena Amoeba ini sangat transparan. Karena Amoeba ini jarang maka pencarian harus berulang-ulang. Tidak jarang ditemukan Amoeba spesies lain dengan ukuran lebih kecil dari A.proteus.
4. Perhatikanlah gerak A.proteus tersebut.

Pembuatan Kultur Amoeba

Tujuan : Membuat perbenihan A.proteus

Untuk memperoleh Amoeba proteus, perlu diperhatikan habitatnya sebagai berikut:

- a. A.proteus terdapat pada tempat-tempat berair, baik air mengalir atau genangan air.
- b. Banyak mengandung mineral dan sedikit mengandung zat

- organis.
- c. Tempat-tempat yang berisi sisa-sisa vegetasi air, khususnya yang termasuk Liliun.

Prosedur pembuatan medium kultur :

1. Panasi air kolam atau air sumur sampai suhu 70 derajat C.
2. Ambil 100 ml air tersebut. masukan ke dalam suatu tempat (gelas piala atau botol selai, dan lain-lain), sehingga air dapat membuat genangan pada tempat tersebut setinggi lebih kurang 2.5 cm.
3. Biarkan air menjadi dingin, dan tambahkan kedalamnya beberapa butir (3 butir) nasi.
4. Biarkan sampai satu atau dua hari, dan tutup dengan tidak begitu rapat mencegah penguapan yang berlebihan.
5. Buatlah temperatur media 20 derajat C, dan kontaminasikan Amoeba dari sumber yang ditemui dari praktikum di atas (air sawah, dasar kolam dan lain-lain).
6. Dalam perbenihan ini air dijaga jangan sampai kurang. Apabila kurang dapat ditambah dengan air masak dingin sehingga volume tetap 100 ml.
7. Kalau pembuatan kultur berhasil, akan ditemui lapisan putih pada bagian atas dasar permukaan cawan tempat kultur.
8. Pengamatan interval dapat dilakukan dalam satu minggu. Re-kultur dapat dilakukan setelah tiga sampai empat minggu untuk membuat biakan murninya.
9. Awetan A.proteus dapat dibuat dengan memfiksasinya dengan alkohol 70%. (Bahan diambil dari dasar kultur dengan pipet, lalu diawetkan dengan alkohol 70%).
10. Apabila awetan telah ada, material ini dapat disimpan lama untuk dapat digunakan dalam praktikum.
11. Dengan pipet tetes, dari dasar botol awetan diambil dan diteteskan pada kaca objek dua tiga tetes, dan segera ditutup dengan kaca penutup. Lalu amati dengan objektif 10 x, dan perhatikan bentuk serta ukurannya.

Paramecium

Tujuan : Menenal Paramecium caudatum

Alat/bahan :

1. Mikroskop biologi
2. Kaca objek dan kaca penutup
3. Botol selai (tutup plastik)
4. Cawan petri
5. Gelas piala
6. Pipet tetes
7. Gelas ukur

8. Alkohol 96%. 70%
9. Formalin 40%
10. Gunting kecil
11. Jerami
12. Larutan kanji 1%

Prosedur kerja:

Habitat *P. caudatum* adalah pada genangan yang mengandung daun atau jerami yang membusuk. Untuk itu air diambil dari genangan tersebut. *P. caudatum* tidak tinggal pada dasar, karena dia dapat bergerak dan berpindah-pindah. Apabila dalam pengamatan air ada mengandung *Paramecium*, maka untuk memperlambat gerakannya, maka tetesan air yang berisi *Paramecium* di atas kaca objek dicampur dengan satu tetes larutan kanji 1%. Lalu tutup dengan kaca penutup.

Pembuatan Kultur *Paramecium*

Tujuan : Membuat biakan *Paramecium*

Prosedur kerja:

Paramecium dapat dikoleksi dari genangan-genangan air yang banyak terdapat jerami atau sisa-sisa rumput lain. Medium untuk *Paramecium* disiapkan sebagai berikut.

1. Siapkan potongan-potongan jerami (2-3) cm.
2. Potongan jerami dimasukkan kedalam botol bermulut lebar berisi air.
3. Panaskan campuran tersebut selama 20 menit atau lebih, dan biarkan dingin dalam keadaan terbuka selama 5 sampai 6 hari.
4. Kemudian inokulasikan *Paramecium* yang diambil dari genangan jerami di sawah.
5. Taburkan juga beberapa butir gandum atau nasi (4-5 butir) dan amatilah dengan interval waktu 24 jam, lalu 3 hari, 4 hari, 7 hari, 10 hari, dan dua minggu.
6. Apabila berhasil akan dijumpai pada permukaan kultur ataupun disekitar makanan.

12. LINGKUNGAN, SUHU, DAN BAHAN KIMIA

Polusi Udara

Tujuan mendeteksi polusi udara

Alat/Bahan

Kertas karton manila 10 x 15 cm
Gunting/pisau pemotong kertas
Transparan tape (selotipe)
Paku payung
Kaca pembesar

Prosedur

Kertas karton manila dilipat dua menjadi ukuran 10 x 7.5 cm. Pada bagian tengah disalah satu bagian yang dilipat dibuat lobang dengan ukuran 2 x 2 cm. Pada lobang ini diletakan atau dilekatkan pita transparan (selotipe) dengan bagian yang pakai perekat menghadap ke dalam. Kertas kardus ditempelkan dengan bantuan paku payung di tempat yang akan dideteksi pengotoran udaranya. Catat juga tempat, kondisi dan tanggal pengamatan. Pengamatan dapat pada beberapa tempat, di bawah pohon, di pinggir jalan, di jendela, pintu rumah, dan lain-lain. Biarkan pengamatan selama 24 jam, dan jangan kena kehujanan. Lihat pita perekat (selotipe) di bawah kaca pembesar, dan bandingkanlah tingkat polusi pada tempat-tempat yang dijadikan sampel.

Hujan Asam

Tujuan melihat pengaruh hujan asam terhadap tanaman.

Alat/Bahan

Empat kardus susu berukuran sekitar 1/2 liter
Tanah satu pot
Rumput
Air
Asam cuka
Mistar atau pengukur panjang

Prosedur

Tiap kardus diisi tanah dan ditanami rumput dan disiram secara teratur sehingga rumput tumbuh baik sampai setinggi 5 cm. Tiap minggu pertama, kedua, dan ketiga diukur tingginya

rumpun.

Kardus pertama rumput disiram dengan air sepenuhnya.

Kardus kedua disiram dengan campuran air dan asam cuka 1:1

Kardus ketiga disiram dengan campuran air dan asam cuka 1:2

Kardus keempat disiram seluruhnya dengan asam cuka.

Buatlah prediksi apa hasil yang diharapkan dari percobaan di atas. Kalau perlu buat tabel pengamatan (pengukuran dan kejadian yang terlihat pada tanaman yang disiram dengan berbagai tingkat keasaman pada minggu 1,2,3 untuk berbagai kardus).

Pengaruh Bahan Kimia Dalam Pematangan Buah

Tujuan melihat pengaruh bahan kimia dalam pematangan buah

Alat/Bahan

Satu buah pisang matang (sempurna masak)

Dua buah tomat yang masih hijau

Dua kantong plastik

Prosedur

Tempatkanlah pisang dan sebuah tomat dalam kantong plastik, dan kantong disegel (ditutup rapat).

Tempatkan tomat yang lain dalam kantong yang lain dan kantong disegel pula.

Tempatkan kedua kantong pada tempat yang panas dan gelap.

Observasi kantong setiap hari dan catat perubahan apa yang Anda lihat. Buat pengamatan dalam satu tabel.

S u h u

Tujuan : Melihat pengaruh suhu

Alat/Bahan:

1. 4 buah botol steril
2. Susu yang diencerkan
3. Media agar kentang dalam cawan petri
4. Termometer

Prosedur kerja:

- a. Masing-masing tabung steril diisi dengan susu yang telah diencerkan.
- b. Tabung pertama dipanaskan sampai suhu 65°C , tabung kedua 75°C , tabung ketiga 85°C , dan tabung keempat 100°C .
- c. Masing-masing ditanam dalam medium agar kentang, dan amati

dan catat setelah tiga hari apa yang terjadi dalam cawan media agar kentang. Diskusikan dan terangkan.

Pengaruh pH Terhadap Pertumbuhan Mikroba

Tujuan: Melihat peranan pH dalam pertumbuhan mikroba air kolam.

Alat/Bahan:

1. Tabung steril
2. Asam kuat
3. Air kolam yang telah disaring dengan saringan kain kasa.
4. Kertas lakmus (indikator)

Prosedur kerja:

- a. 5 tabung steril masing-masing diisi dengan air kolam yang telah disaring sebanyak 5 ml.
- b. Tabung pertama diusahakan pH 7.0, tabung kedua pH 6.0, tabung ketiga pH 5.0, tabung keempat pH 4.0 dan tabung kelima pH 3.0; melalui penambahan sejumlah asam kuat.
- d. Kelima tabung diletakan pada tempat yang dikenai langsung sinar matahari.
- e. Amati dan catat apa yang terjadi pada tiap-tiap tabung pada minggu keempat dan minggu keenam.
- f. Diskusikanlah serta jelaskan dan terangkan kejadian yang ditemui tersebut.

Efek Antibiotika Terhadap Pertumbuhan Bakteri

Tujuan : Mengontrol pertumbuhan bakteri

Pengendalian infeksi bakteri masih merupakan problema besar dalam bidang kesehatan. Penemuan dan penggunaan antibiotika walaupun dalam satu sisi merupakan kemajuan yang spektakular, akan tetapi banyak pula penyakit baru yang ditemukan dan disebabkan pula oleh bakteri lain. Sejarah antibiotik dimulai tahun 1929 ketika ahli biologi Inggris Alexander Fleming menemukan pada cawan petrinya beberapa jenis bakteri tidak mengalami kontaminasi karena ada jamur yang dinamainya *Penicillium*. Diselidikinya bahwa disekitar jamur pertumbuhan bakteri terhambat. Disimpulkannya bahwa jamur menghasilkan bahan kimia yang mudah larut mempunyai kapasitas menghambat pertumbuhan bakteri. Fleming akhirnya dapat mengisolir bahan tersebut dan dinamainya penicillin. Sebagai diketahui bahwa bahan kimia yang dihasilkan oleh organisme hidup yang dapat menghambat pertumbuhan organisme lain dinamai antibiotika. Secara luas

banyak antibiotik yang ditemui sekarang, seperti streptomisin, khloromisin, aureomisin, dan terramisin. Praktikum berikut melihat efek berbeda dari antibiotik terhadap pertumbuhan kuman secara umum.

Alat/bahan

1. Cawan petri berisi nutrisi agar (tempat pertumbuhan kuman)
2. Susupensi bakteri
3. Inkubator
4. Beberapa macam antibiotika

Prosedur kerja

- a. Sediakanlah cawan petri berisi agar yang sudah siap.
- b. Tandai pada bagian belakang cawan dengan spidol dengan jalan membagi 4 kuadrant (kuadran 1,2,3 dan kontrol).
- c. Teteskan 10 tetes susupensi bakteri pada permukaan agar.
- d. Tutup cawan petri dan pegang serta angkat sampai setinggi mata, lalu putar-putar dan goyang-goyangkan secara pelan sehingga tetesan mengalir di atas permukaan agar. (aturlah cara penyebarannya merata dipermukaan agar)
- e. Inkubasikan dalam inkubator untuk 24 jam dengan suhu 37 derajat C, atau dengan temperatur kamar selama 48 jam.
- f. Lalu teteskan bermacam antibiotika, masing-masing untuk kuadran 1, 2, 3, dan pada kontrol tidak diberi.
- g. Inkubasikan pada suhu 37 derajat atau suhu kamar, dan biarkan sampai 3 atau 4 hari dalam inkubator.
- h. Kemudian observasi pada masing-masing kuadran, dan apa yang terjadi.

13. PEMERIKSAAN TELUR CACING USUS

Di dalam tinja mungkin ditemukan cacing dewasa, larva, atau telur-telur cacing. Pemeriksaan telur cacing usus ada beberapa macam

I. Cara sediaan basah dengan kaca tutup

Bahan yang diperlukan:

1. tinja yang akan diperiksa,
2. kaca obyek,
3. kaca penutup,
4. air atau garam fisiologis,
5. lidi (5 cm),

Cara pemeriksaan:

1. Letakan setetes air atau setetes garam fisiologis di atas kaca obyek (kaca benda).
2. Dengan lidi diambil sedikit tinja (sekitar 1-2 mm³).
3. Tinja diaduk dengan lidi pada tetesan air sehingga terdapat suspensi homogen. Bahan-bahan kasar seperti serat, biji-bijian, atau sisa makanan lainnya dikeluarkan dari suspensi.
4. Suspensi homogen tadi ditutup dengan kaca penutup.
5. Periksa dibawah mikroskop dengan pembesaran lemah (obyektif 10x) dan dengan kondensor turun atau dafragma kecil. Amatilah telur-telur cacing kalau ada.

II. Cara sediaan apus

Bahan yang diperlukan:

1. tinja yang akan diperiksa,
2. kaca obyek,
3. kaca penutup,
4. lidi (5 cm),
5. air atau larutan garam fisiologis,
6. eosin 2%.

Cara pemeriksaan:

1. Setetes air atau larutan garam fisiologis, atau eosin 2% ditaruh di atas gelas obyek. Sebaiknya dibuat beberapa sediaan untuk tiap spesimen (contoh) tinja, misalnya 4 sediaan.
2. Dengan lidi diambil sedikit tinja, dan di atas kaca obyek dioleskan membentuk suspensi. Suspensi disebarakan sehingga terdapat lapisan tipis dan tetap basah, lalu

- ditutup dengan kaca penutup.
3. Periksalah dengan mikroskop pembesaran lemah.

III. Pemeriksaan dengan cara konsentrasi sedimentasi

Alat/bahan yang diperlukan:

1. Gelas sedimentasi berukuran 250 ml.
2. Saringan kawat halus.
3. Gelas piala (beaker),
4. Air.
5. Sepotong kayu/bambu/lidi ukuran kira-kira 25 cm,
6. Pipet pakai karet pengisap,
7. Kaca obyek dan kaca penutup.

Cara kerja:

1. Tempatkan saringan kawat di atas gelas sedimentasi.
2. Masukkan kira-kira 2 ml tinja ke dalam gelas piala.
3. Tinja dihancurkan dengan bambu/lidi sambil dituangi air sedikit demi sedikit sampai bentuk bubur.
4. Saringlah ke dalam gelas sedimentasi.
5. Air ditambahkan sehingga gelas hampir terisi penuh, dan gelas didiamkan sampai terbentuk sedimen yang didalamnya berisi telur-telur cacing.
6. Setelah terbentuk sedimen (sekitar 15 menit), cairan keruh di atas sedimen dibuang dan diganti dengan air yang baru, dan gelas kemudian didiamkan lagi.
7. Pekerjaan butir f di ulang-ulang sampai cairan di atas sedimen tidak lagi keruh.
8. Setelah cairan jernih, cairan di atas sedimen ini dibuang dan sedimen dengan pipet diambil dan diletakan diatas kaca obyek.
9. Pemeriksaan dilakukan dengan mikroskop pembesaran lemah.

IV. Pemeriksaan cara floatasi telur (Metode Willis-Malloy)

Alat/Bahan yang diperlukan:

1. Tabung-tabung reaksi.
2. Larutan garam NaCl jenuh dengan berat jenis 1.20.
3. Gelas piala (beaker) 30 ml.
4. Kaca obyek dan kaca penutup.
5. Lidi atau sepotong bambu.
6. Tinja.

Cara Kerja

1. Tabung reaksi diisi dengan larutan NaCl jenuh sampai penuh.

2. Tinja dimasukkan ke dalam gelas piala. dihancurkan dengan bambu sambil ditambah larutan garam jenuh sedikit demi sedikit sehingga menjadi homogen. Semua larutan garam yang tercampur dengan baik sehingga berat jenis kira-kira 1:20.
3. Tuangkan kembali isi gelas piala ke dalam tabung reaksi sampai penuh. Bagian-bagian yang kasar dipisahkan.
4. Kaca penutup diletakan di atas tabung reaksi sehingga menyentuh permukaan larutan.
5. Dibiarkan selama 45 menit.
6. Dengan hati-hati kaca penutup diangkat dan ditempelkan pada kaca obyek.
7. Periksalah di bawah mikroskop dengan pembesaran lemah (obyektif 10x).

V. Pemeriksaan Floatasi (Cara Faust)

Alat/Bahan yang dibutuhkan:

Di samping bahan dan peralatan seperti percobaan IV, maka cara Faust membutuhkan larutan zinc sulfat jenuh. Bahannya dibuat dari zinc sulfat USP sebanyak 333 gr dan akuades panas 1.000 ml sehingga berat jenisnya 1.118.

Cara kerja:

1. Tinja dimasukkan ke dalam tabung putar diberi air dengan perbandingan tinja air = 1:15.
2. Diputar dengan kecepatan 2.500 putaran per menit (rpm) selama 1 menit. Cairan di bagian atas tabung di buang dan diganti dengan air lalu diputar berulang-ulang dengan kecepatan 2.500 rpm selama 1 menit. Tiap pengulangan cairan diganti sampai waktu diputar cairan tetap jernih.
3. Setelah cairan jernih dibuang, ke dalam tabung putar dimasukkan larutan zinc sulfat jenuh, lalu diputar lagi. Sesudah diputar tabung didiamkan di atas rak.
4. Dengan jarum ose diambil satu atau dua tetes cairan permukaan yang mengapung, dan diletakan di atas kaca objek serta ditutup dengan kaca penutup.
5. Pemeriksaan dilakukan di bawah mikroskop dengan pemeriksaan lemah. Sebaiknya tiap spesimen diperiksa berulang minimal dua kali.

VI. Pemiakan Tempayak Nematoda

Bahan dan alat

1. Kantong plastik kecil, transparan, tidak bewarna, ukuran 4 x 20 cm atau lebih dikenal dengan kantong es mambo.
2. Kertas saring atau koran, ukuran 3 x 15 cm

3. Lidi. ukuran 10 cm.
4. Air bersih (akuadestilata, atau air matang yang sudah didinginkan).
5. Karet pengikat atau karet gelang.
6. Faeces atau tinja yang akan diperiksa.

Cara Kerja

1. Kantong plastik dibuat miring dengan sudut 45 derajat, agar larva filariform yang sedang bertumbuh berkumpul ke arah ujung kantong (sudut tadi), dan mudah mengambilnya untuk diperiksa. Kantong dilipat dengan sudut 45 derajat dengan bantuan gelas obyek, dan pada lipatan tersebut dilewatkan pada nyala lilin (api) sehingga terbentuk lipatan kantong akibat panas kantong melengkut dengan sudut yang runcing.
2. Pada bagian yang dilipatan tadi ada bagian yang tidak bisa diisi, dan bagian ini dapat ditulis dengan spidol permanen dari ciri pemilik, yaitu : umur, seks, tanggal kultur, dan lain-lain.
3. Salah satu ujung kertas saring atau koran, dibuat runcing sesuai dengan ujung kantong plastik (agar pas masuk).
4. Tinja yang akan diperiksa dioleskan dengan sepotong lidi pada bagian tengah kertas (lebih kurang pada 1/3 bagian tengah kertas).
5. Kantong plastik diisi dengan airsebanyak 5 ml. dan kertas yang sudah diolesi tinja dimasukkan ke dalam kantong plastik sehingga bagian yang runcing terendam setinggi 1-2 cm.
6. Bagian atas kantong plastik diikat dengan karet gelang, lalu gantungkan diruangan yang terlindung dari sinar matahari.
7. Setelah 5 atau 7 hari pembiakan telah berlangsung dan larva fillariform akan terkumpul di daerah ujung kantong yang runcing.
8. Ujung kantong digunting dan larva keluar bersama air yang ditampung langsung denga gelas piala. Lal diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 x atau 400 kali.

14. H E M A T O L O G I

* Mengukur Hb metoda Sahli-Hellige

Darah diambil melalui tusukan pada kulit (skin puncture) yang pada orang dewasa ditusuk pada ujung-ujung jari atau daun telinga yang sehat atau tidak mengalami perubahan (tidak infeksi, tidak oedema, tidak sianotis, dan lain-lain).

Penusukan pada kulit menggunakan jarum tusuk (vaccinostyle, lanset) seteril, secara tegak lurus pada garis-garis jari. Sebelum dilakukan penusukan kulit, terlebih dahulu ujung jari dibersihkan dengan air dan sabun. Kemudian disterilkan dengan kapas tercelup alkohol 70%. Setelah dibersihkan dengan alkohol, biarkan kering atau dikeringkan dengan kasa steril. Tusukan dengan lanset tajam steril pada kedalaman tertentu (2 mm) di mana darah dapat mengalir bebas tanpa tekanan. Tetesan pertama dibuang dengan menghapusnya dengan kapas atau kasa yang bersih dan kering.

Reagen yang digunakan adalah HCl 0,1 N (ke dalam 500 ml akuadestilata dalam botol Erlenmeyer 1.000 ml diteteskan 8,6 ml HCl pekat secara pelan-pelan sambil diaduk, lalu volume dicukupkan sampai 1.000 ml dengan menambahkan akuadestilata secara pelan-pelan).

Ambilah HCl 0,1 N dengan pipet dan masukan ke dalam tabung Sahli sampai tanda garis 10.

Darah ditempat tusukan dihisap dengan pipet Hb darah dengan baik-baik sampai tepat pada tanda 20 cmm, dan bersihkanlah semua darah yang kelebihan serta yang melekat pada bagian ujung luar pipet.

Darah dimasukan ke dalam tabung Sahli yang pakai skala dan diusahakan semua darah dalam pipet dikeluarkan dengan jalan meniupnya. Dengan isap dan tiup beberapa kali darah dan asam HCl akan tercampur dengan merata. Dan akhirnya pipet dicuci dengan sedikit air, dan ditambahkan ke dalam campuran tersebut. Darah akan bercampur dengan HCL 0.1 N, dan tunggu paling sedikit 3 menit sehingga terbentuk acid-hematin. Setelah ditunggu 3 menit, lalu diteteskan akuadestilata sambil mengaduk-aduknya dengan kaca batang pengaduk yang tersedia. Tetesan akua diteruskan sampai warna cairan campuran sama dengan warna air teh mirip warna dua batang masif yang ada pada Hb meter. Pada saat warna campuran sesuai atau sama dengan warna dua batang masif, tentukan tinggi miniskus dan baca skala pada Hb meter. Ada tiga macam pembagian skala pada tabung dan tergantung kepada jenis haemostitometernya. Ada skala berupa gram %, pembagian %, dan pembagian satuan Sahli. Hubungan ketiga satuan ini adalah: 80 satuan Sahli = 100% = 17-18 gr%.

Harga Hb normal tergantung kepada umur, kelamin, dan lain-lain. Pada laki-laki dewasa batas Hb normal 14-18 gr%. Pada wanita dewasa harga Hb normal adalah 12-16 gr%. Pada wanita

70 satuan Sahli, dianggap nilai yang normal. Untuk latihan Anda, Anda dapat melakukan berapa nilai kadar Hb masing-masing kawan Anda.

* Penentuan kadar Hb metode Tallquist

Setelah jari ditusuk, darah ditampung pada kertas saring khusus untuk itu. Warna darah pada kertas saring dicocokkan dengan warna-warna standar yang tersedia. Dalam hal ini yang perlu diperhatikan darah pada kertas saring jangan ditunggu terlalu lama (tidak boleh kering betul di udara) segera dibandingkan dengan warna standard. Harga biasanya dinyatakan dalam % standard yang telah tertulis di bawah warna-warna standar.

* Kecepatan pengendapan eritrosit

Darah yang dipakai adalah darah yang telah dicampur dengan sitras natrikus 3.8% sebanyak 1/9 dari jumlah darah. Sejumlah tabung-tabung pengendapan (tabung khusus) dengan rak yang sengaja untuk itu, masing-masing tabung diisi dengan darah sebanyak 1 ml. Tabung-tabung diberdirikan pada rak dengan betul-betul tegak lurus (vertikal). Observasi tiap 30, 60, 90 menit berapa millimeter turunnya butir-butir eritrosit. Tinggi plasma yang jernih yang terjadi setelah 1 jam biasanya dijadikan sebagai ukuran kecepatan pengendapan eritrosit. Hasil pengamatan dicatat dalam suatu daftar. Sebagai bahan diskusi: Faktor-faktor apa yang dapat mempengaruhi kecepatan pengendapan? Pada keadaan bagaimanakah faktor ini bertambah?.

* Tahanan osmotik sel darah merah

Tabung reaksi kecil dinomori dari nomor 1 sampai 6. Ke dalam tabung pertama dimasukan 0.3 ml larutan NaCl 5%; ke dalam tabung kedua 0.4 ml, dan seterusnya tiap kali ditambahkan 0.1 ml banyaknya untuk masing-masing tabung berikutnya. Kemudian ke dalam tiap tabung ditambahkan akuadestilata sehingga masing-masing tabung jumlahnya 5 ml, dan dikocok atau dicampur baik-baik. Tentukanlah kadar NaCl untuk setiap tabung. Untuk setiap tabung dimasukan setetes tetesan darah ujung jari secara berhati-hati dan dicampurkan baik-baik. Setelah satu jamcatatlah kadar NaCl yang terendah di dalam tabung di mana larutannya pada lapisan atas sekalai tidak berwarna merah sedikitpun juga. Bagaimana menerangkan warna merah yang terdapat dalam beberpa tabung yang lainnya?. Padang tabung yang mana cairan di sebelah atas paling dahulu menjadi berwarna?. Berapa kadarnya NaCl dalam tabung tersebut?.

Percobaan ini menyangkut tahanan osmotik eritrosit.

* Waktu perdarahan

Tusuklah ujung jari teman Anda dengan vaksinostil secara steril. Catatlah dengan tepat saat melakukan penusukan di mana tetesan pertama keluar. Tetesan ini diisap dengan kertas saring. dikerjakan terus mengisap tetesan demi tetesan yang terbentuk berikutnya sampai pada saat tidak ada darah keluar lagi yang akan diisap. Waktunya semua dicatat. Waktu mulai tampaknya tetesan pertama sampai berhentinya perdarahan dikenal sebagai waktu perdarahan. Pada orang sehat dan normal waktu itu berlangsung 2 sampai 3 menit. Praktekanlah pada masing-masing teman Anda sehingga dapat diketahui berapa lama waktu perdarahannya.

* Penghitungan Leukosit

Leukosit dihitung setelah darah contoh dilarutkan dalam cairan khusus yang dapat menghancurkan sel darah merah. Cairan atau larutan khusus berfungsi mewarnai inti sel-sel darah putih sehingga sel mudah dilihat dan dihitung. Setelah darah dalam volume tertentu tercampur dengan larutan; maka dilakukan penghitungan sel-sel darah putih menggunakan kamar hitung leukosit (hemositometer). Pipet pengambil darah pipet leukosit berskala 0.5 - 1 - 11. Cairan pelarut adalah cairan Turk, yaitu: 2 ml acidum aceticum glacialis (HCl pekat 0.86 ml) dicampur dengan 98 ml akuadestilata dan ditambahkan sedikit metil violet (violet kristal) sampai larutan bewarna ungu pucat. Darah tusukan diisap dengan pipet leukosit tepat sampai tanda 0.5. Ujung pipet bagian luar dibersihkan dari semua sisa-sisa darah. Ujung pipet dimasukan ke dalam cairan Turk sambil mengisap cairan pelarut. Isapan diteruskan sampai cairan mencapai skala 11 di atas bagian menggelembung dari pipet. Kedua ujung pangkal pipet ditutup dengan jari, dan sambil menggoyang-goyangkan dengan pelan darah akan tercampur dengan pelarut secara baik. Sebelum diteteskan kedalam kamar hitung, beberapa tetes dibuang dulu, baru tetesan berikut dialirkan pada pinggir kaca penutup kamar hitung secara pelan-pelan sampai seluruh kamar hitung terisi termasuk kedua sisi kamar hitung. Dalam pengisian jangan terlalu berlebihan atau ada gelembung udara pada kamar hitung. Kamar hitung dan kaca penutup sebelum digunakan harus bersih, dan kering. Pada pemakaiannya, kamar hitung dan kaca penutup harus dalam posisi horizontal. Setelah diisi, biarkan selama 1-2 menit sampai sel-sel mengendap dalam kamar hitung. Penghitungan dengan mikroskop berlensa kekuatan ringan. Kamar hitung sel leukosit adalah kamar bagian pinggir di bagian ujung keempat sudut

hemositometer. Tiap sudut berisi satu ruang besar dan didalamnya ada 16 kotak kecil. Jumlah sel pada ke empat kotak atau ruang besar dihitung, dan hasilnya dikalikan 50 akan menentukan jumlah leukosit/mm kubik darah.

Harga normal pada orang dewasa adalah sekitar 5-10 ribu sel/mm kubik darah.
Larutan Truk dapat dibuat dengan campuran sebagai berikut:

R/ - asam cuka glasial (glacial acetic acid)	3 ml
- larutan gentian violet dalam air 1%	3 ml
- akuadestilata	300 ml.

* Penghitungan Eritrosit

Sel darah merah dihitung dengan menggunakan pipet eritrosit berskala 1 - 101. Darah dari tempat tusukan diisap dengan pipet dan posisi pipet waktu diisap ada dalam posisi horizontal. Isapan sampai darah ke angka 0.5. Apabila terlebih, darah diisap kembali dengan kertas saring sampai tepat di angka 0.5. Pipet dimasukkan dalam reagensia (larutan Hayem) dan larutan diisap ke dalam pipet secara vertikal sampai campuran mencapai ketinggian 101. Setelah itu kedua ujung pangkal pipet ditutup ujung jari dan campuran dikocok pelan selama 2-3 menit.

Setelah dikocok, penghitungan menggunakan hemositometer Neubauer. Sebelum campuran dituangkan pada kamar hitung, kira-kira sepertiga bagian dari campuran dibuang dulu, baru diteteskan pada kamar hitung melalui pinggir kaca penutup. Harus hati-hati jangan sampai terlalu penuh, atau ada gelembung udara di bawah kaca penutup.

Penghitungan menggunakan 5 kotak besar yang didalam tiap kotak besar ada 16 kotak kecil. Dengan demikian penghitungan menggunakan 80 kotak kecil. Karena tebal atau tinggi tiap kotak 0.1 mm, maka jumlah sel dalam 80 kotak x 10 x 5 x 200, akan menyatakan jumlah eritrosit per mm kubik darah.

Jumlah eritrosit normal pada wanita sekitar 4.0-5.0 juta/mm kubik darah; dan pada pria sekitar 4.5-5.5 juta/mm kubik darah.

Jumlah eritrosit melebihi harga normal disebut polisitemia, dan kurang disebut oligositemia.

Larutan Hayem dan modifikasinya dapat dibuat sebagai berikut.

R/ - trisodium citrate	3 gram
- akuadestilata	100 ml
- formalin (formaldehyde 40%)	1 ml

Campuran ini dikocok baik-baik, dan dapat tahan lama.

Larutan Hayem dapat juga dibuat dari campuran bahan sebagai berikut.

R/ - mercurochloride	0.5 gr
- natrium sulfat	5.0 gr
- natrium chloride	1.0 gr
- aquadestilata	200.0 gr

*** Indek warna darah**

Indek warna darah diperoleh dari perbandingan jumlah eritrosit dengan kadar Hb yang didapat. Indek menyatakan kesan % Hb untuk tiap-tiap sel darah merah. Dalam keadaan normal harga indeks 1. Apabila H menyatakan persentase Hb yang didapat, sedangkan n adalah jumlah eritrosit didapat per mm kubik darah, maka indeks warna menurut rumus adalah:

$$\text{Indeks warna darah laki-laki} = \frac{H \times 5.000.000}{100 \times n}$$

$$\text{Indeks warna darah wanita} = \frac{H \times 4.500.000}{100 \times n}$$

*** Sediaan darah apus (slide methode)**

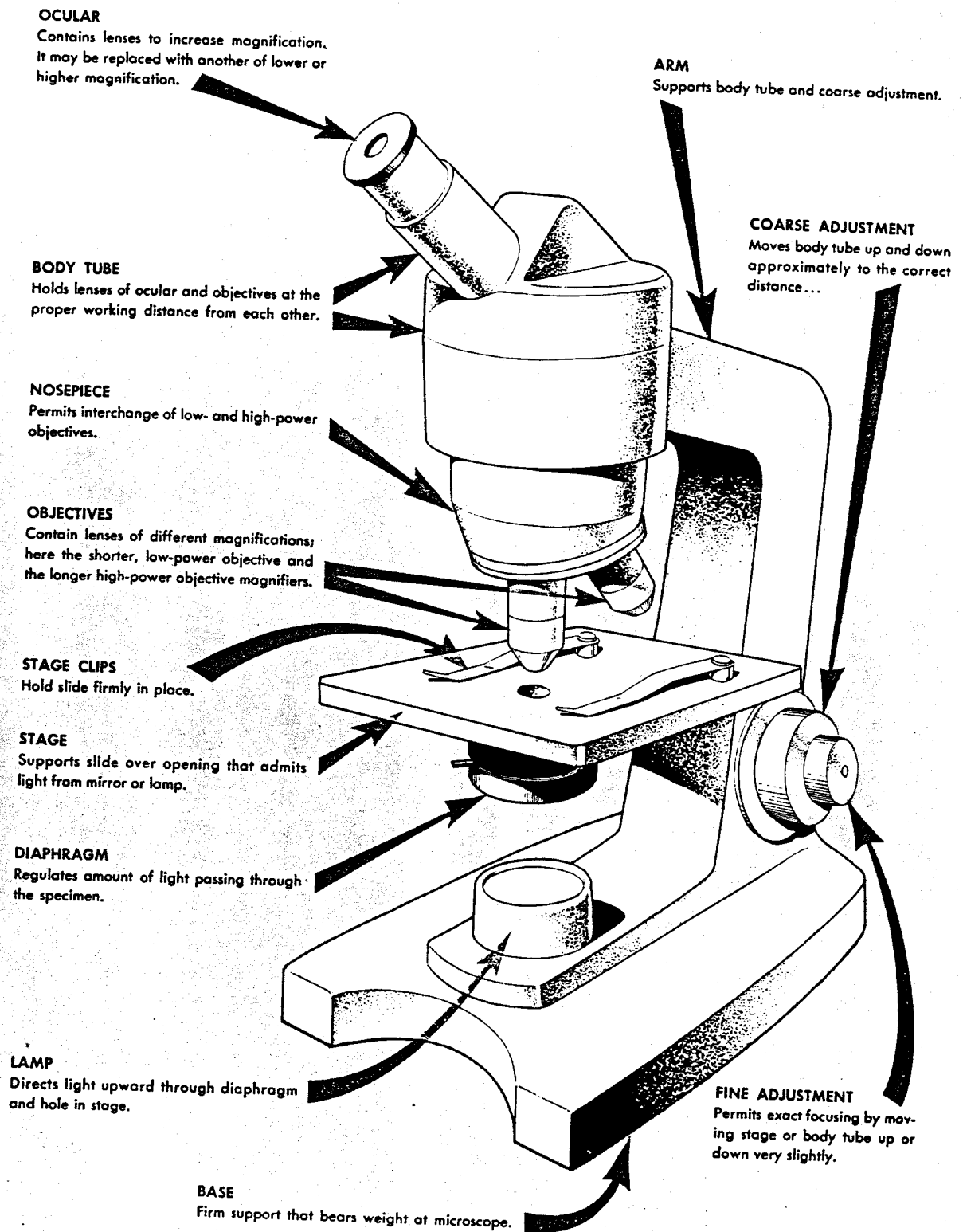
Peralatan yang dibutuhkan adalah kaca objek bersih dan kering. Untuk membersihkan kaca, gunakan air panas pakai sabun, dan selanjutnya dibersihkan dengan alkohol. Tetesan darah ujung jari ditaruh hati-hati pada ujung kaca objek (waktu meneteskan darah jari, kulit jari jangan sampai menyentuh kaca objek) sehingga sel-sel darah tidak rusak. Kaca objek letaknya horizontal di atas meja. Dengan kaca objek lain yang membentuk sudut 45 derajat terhadap kaca objek horizontal, tetesan darah didorong ke ujung lain dengan kekuatan atau kecepatan dorong sedang. Tebal tipisnya sediaan darah tergantung kepada cepat lambatnya dorongan. Makin cepat makin tipis. Sediaan yang terbentuk dikeringkan dengan udara biasa (temperatur kamar) dengan jalan mengipas atau menggerak-gerakan kaca objek tersebut. Sediaan yang baik akan terlihat tidak bergelombang atau tidak adanya bolong-bolong dan lobang-lobang pada sediaan. Apusan jangan sampai ke ujung kaca objek, dan leukosit jangan tertumpuk pada bagian atau ujung tertentu saja. Eritrosit hendaknya tersebar rata. Kaca objek dengan slide yang telah terfiksir ditetesi dengan zat pewarna Wright sampai menutupi seluruh sediaan. Biarkan selama dua menit. Lalu tambahkan air sama banyak dan buat campuran jadi merata (untuk merata campuran di tiup pelan-pelan sehingga tercampur). Genangan dibiarkan selama 5 menit, dan waktu ini tergantung pada zat warna, apakah zat warna masih baru atau sudah usang. Setelah

5 menit campuran dibuang dengan bantuan air mengalir selama 30 detik. Kaca objek dikeringkan dengan jalan meletakkannya secara miring atau disandarkan dengan beralaskan kertas saring atau kertas koran untuk menyerap air. Pewarnaan yang baik adalah tidak terlihatnya endapan atau tumpukan-tumpukan zat warna pada preparat. Sel-sel darah merah di bawah mikroskop akan terlihat bewarna pink. Pemeriksaan jenis sel-sel darah pada sediaan apus ini akan jelas dengan menggunakan mikroskop pembesaran tinggi pakai oli emersi. Macam-macam bentuk dari sel-sel leukosit akan dapat diamati dengan baik. Adakalanya akan terlihat tumpukan sel-sel darah merah yang tersusun seperti susunan mata uang logam, dan susunan ini disebut ruleaux.

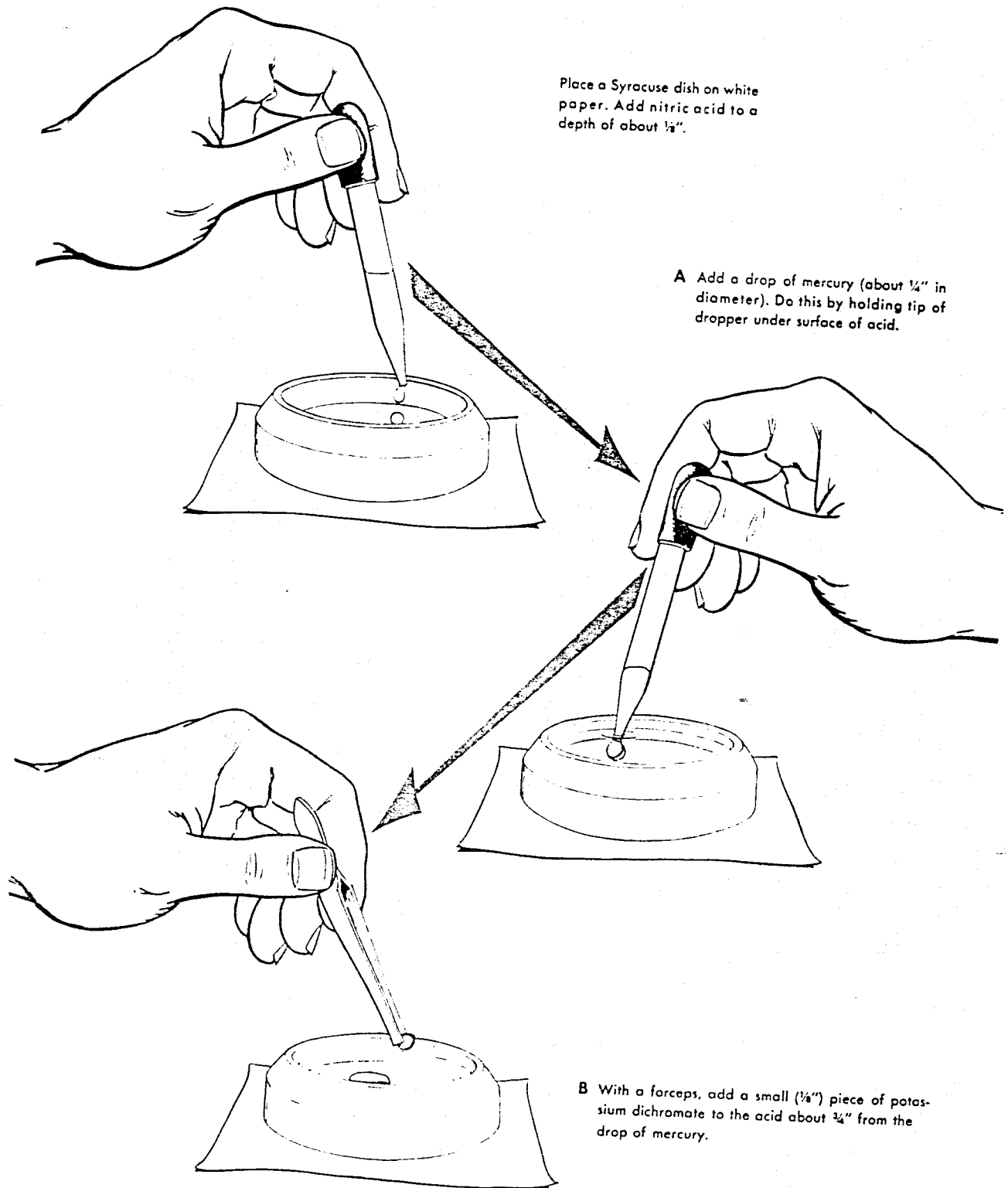
KEPUSTAKAAN

- Abramoff, P. and Robert G. Thomson. 1968. *Investigation of Cells and Organisms: A Laboratory Study in Biology*. New Jersey: Prentice-Hall, Inc.
- A.M Zainuddin. 1982. *Penuntun Kegiatan Dalam Biologi Dengan Metode Inquiry*. Jakarta: PT.Sastra Hudaya.
- Bibiana W.Lay. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Cappucino, James G. Natalie, Sherman. 1983. *Microbiology: A Laboratory Manual*. California: Addison Wesley.
- Phillip, Sheeler & Donald Bianchi, E. 1987. *Cell and Molecular Biology (third edition)*. New York: John Willey & Son.
- Ratna Siri Hadioetomo. 1990. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: PT Gramedia.
- Sri Sabanni Soemartono, dkk. 1979. *Pedoman Praktikum Biologi Umum 1-3*. Jakarta: PT Djambatan.
- Widjoyo Parjatmo, dkk. 1986. *Materi Pokok Petunjuk Praktikum Biologi*. Jakarta: Karunika. Universitas Terbuka.

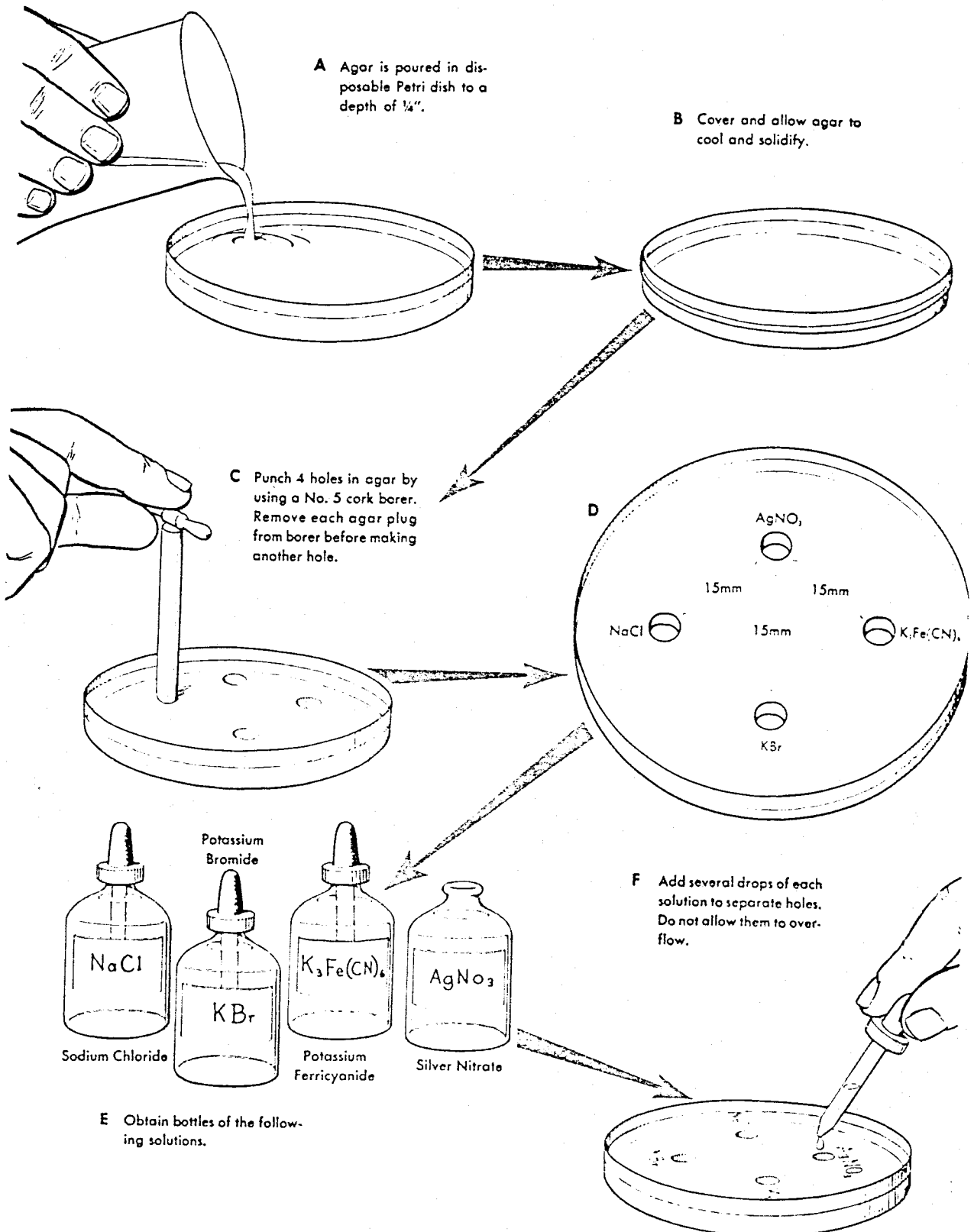
Gambar: Bagian-bagian dari Mikroskop



Gambar: Sel buatan

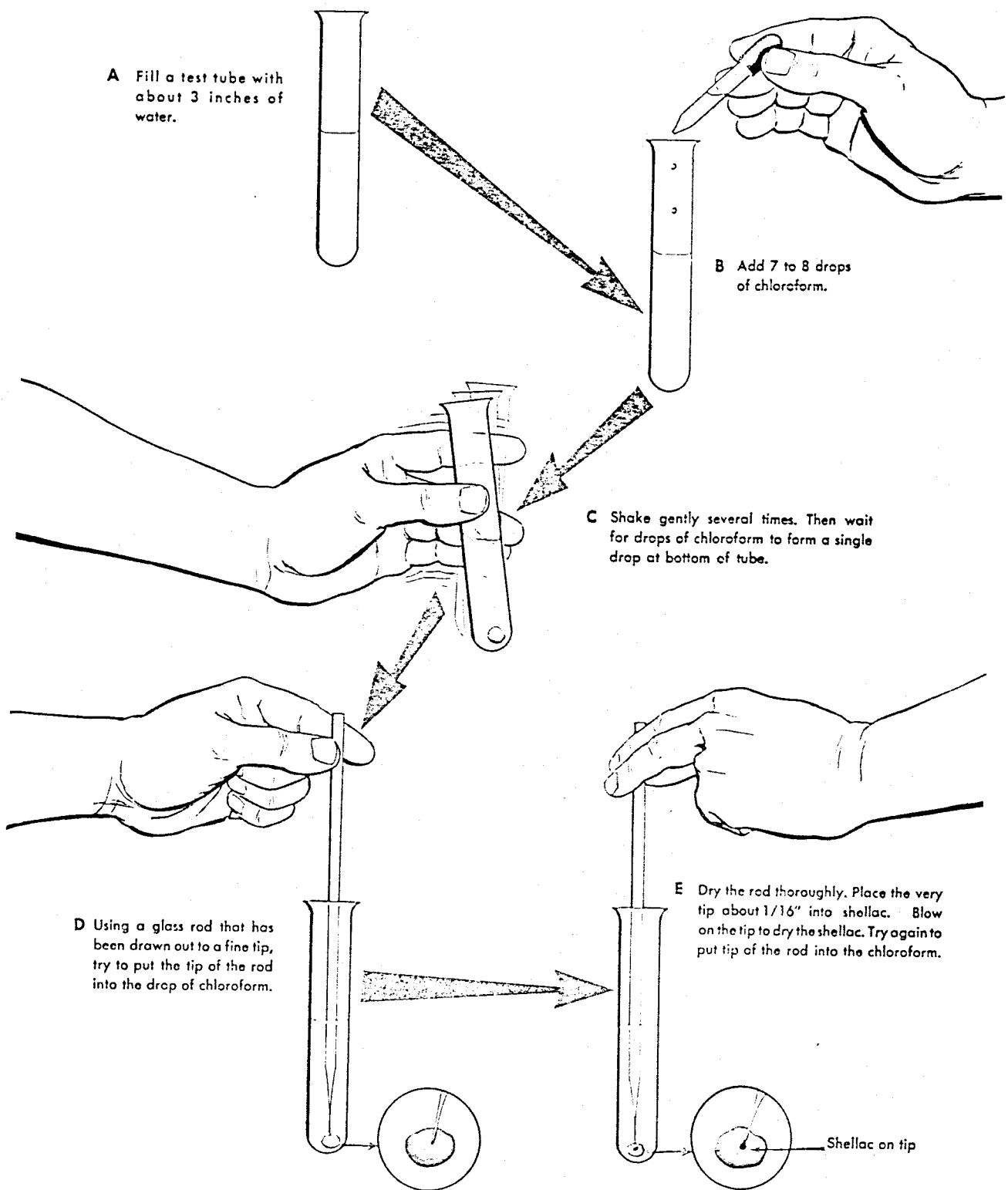


Gambar: Penentuan Kecepatan Difusi

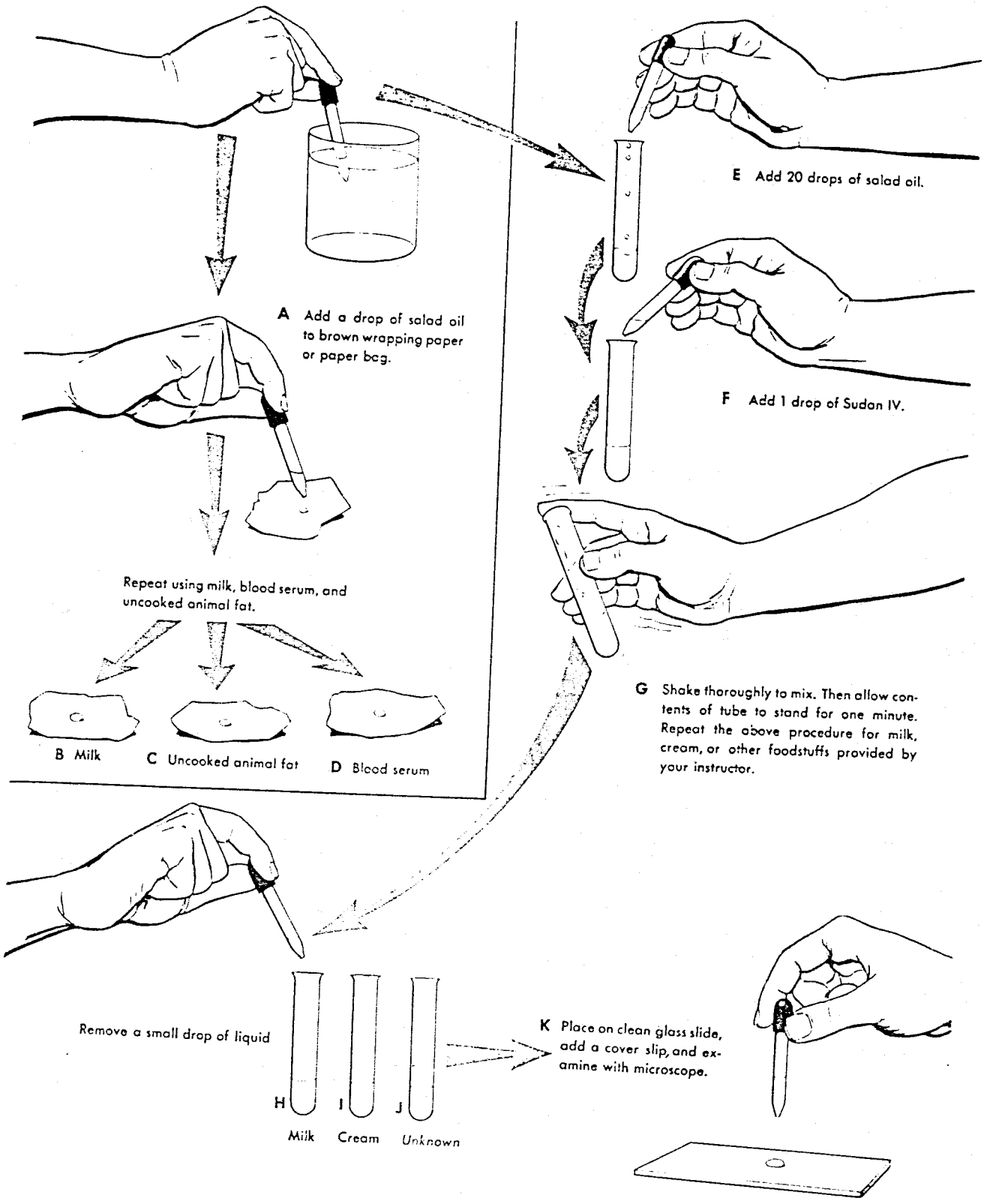


MILIK UPT PERPUSTAKAAN
IKIP PADANG

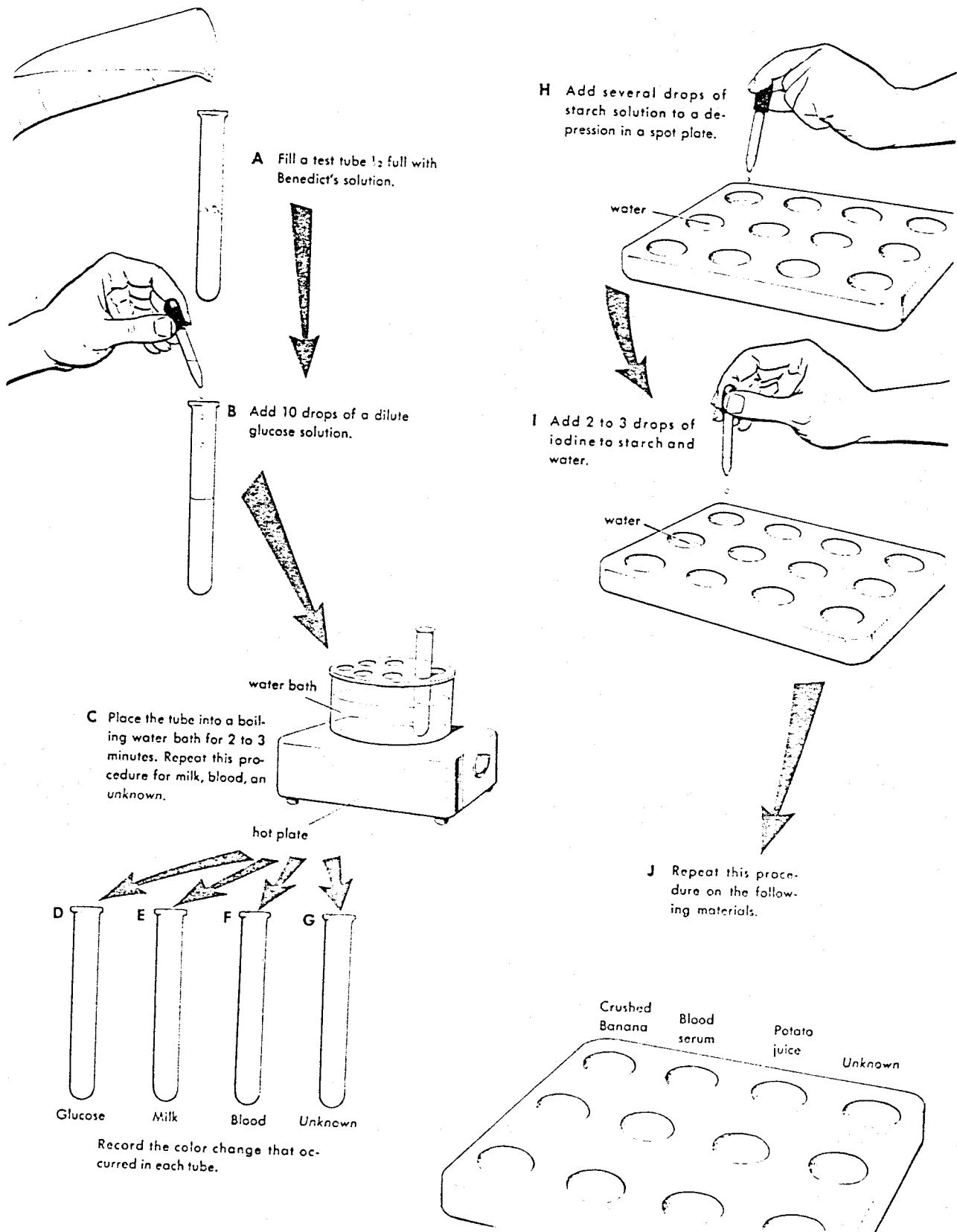
Gambar: Mempelajari beberapa aktifitas sel



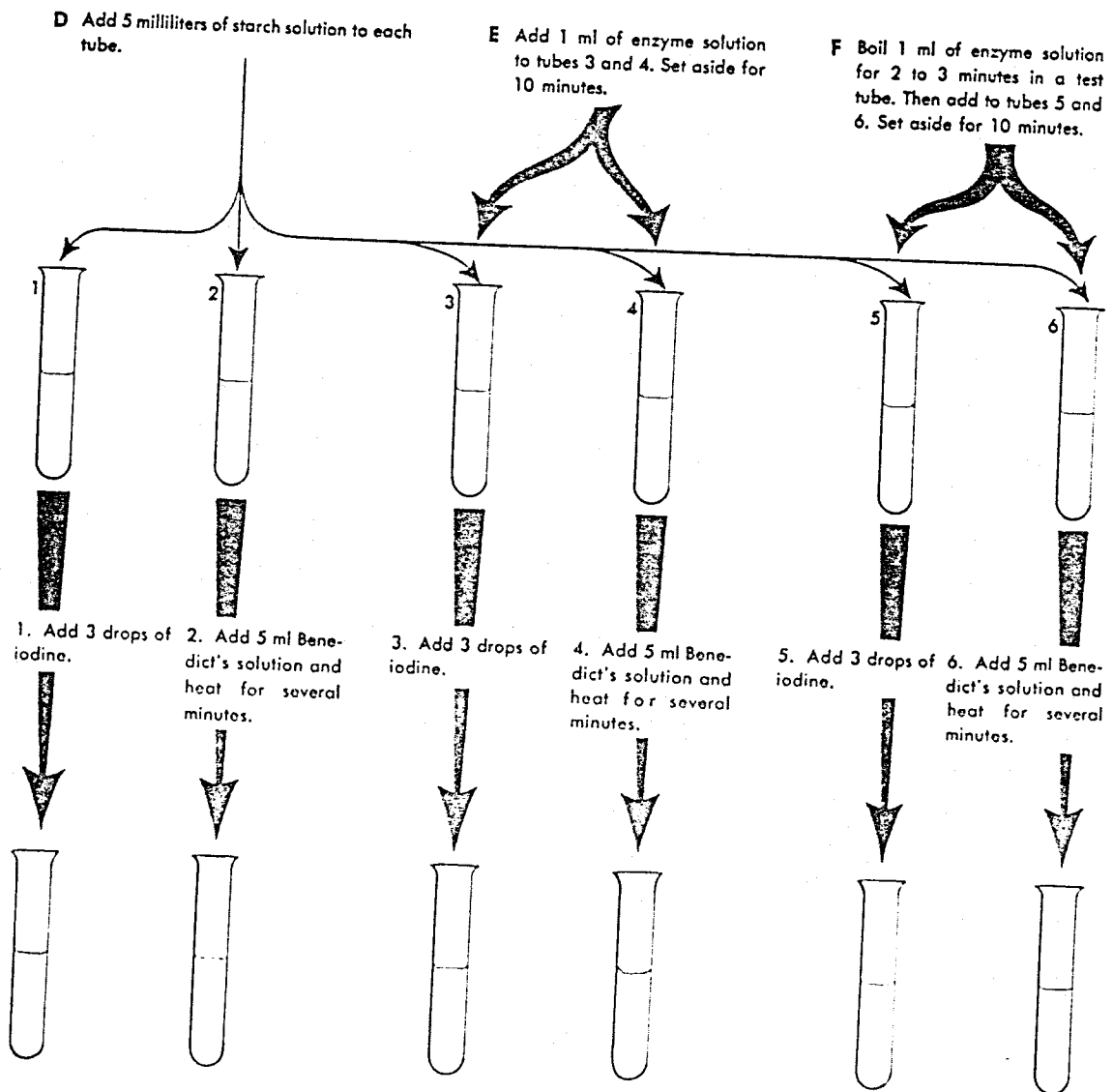
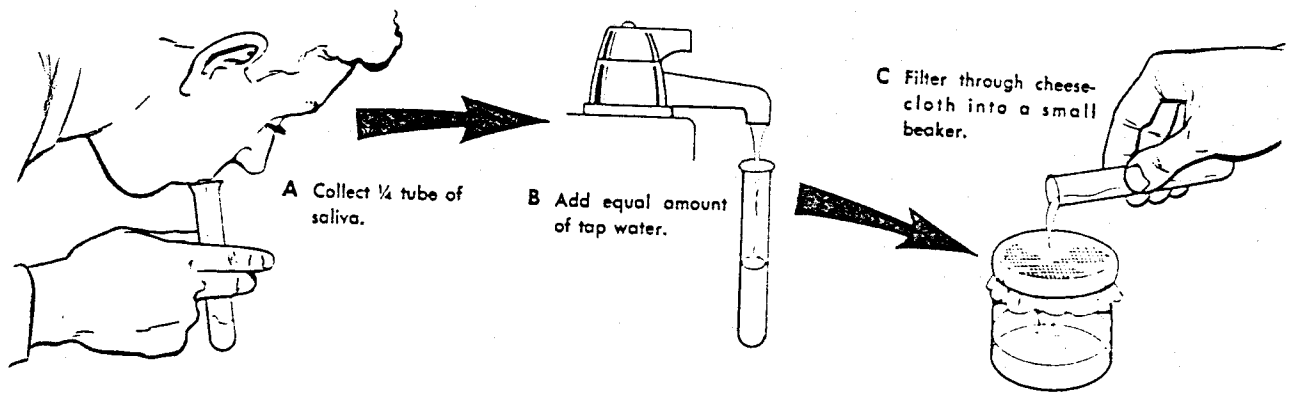
Gambar: Prosedur Tes Lemak



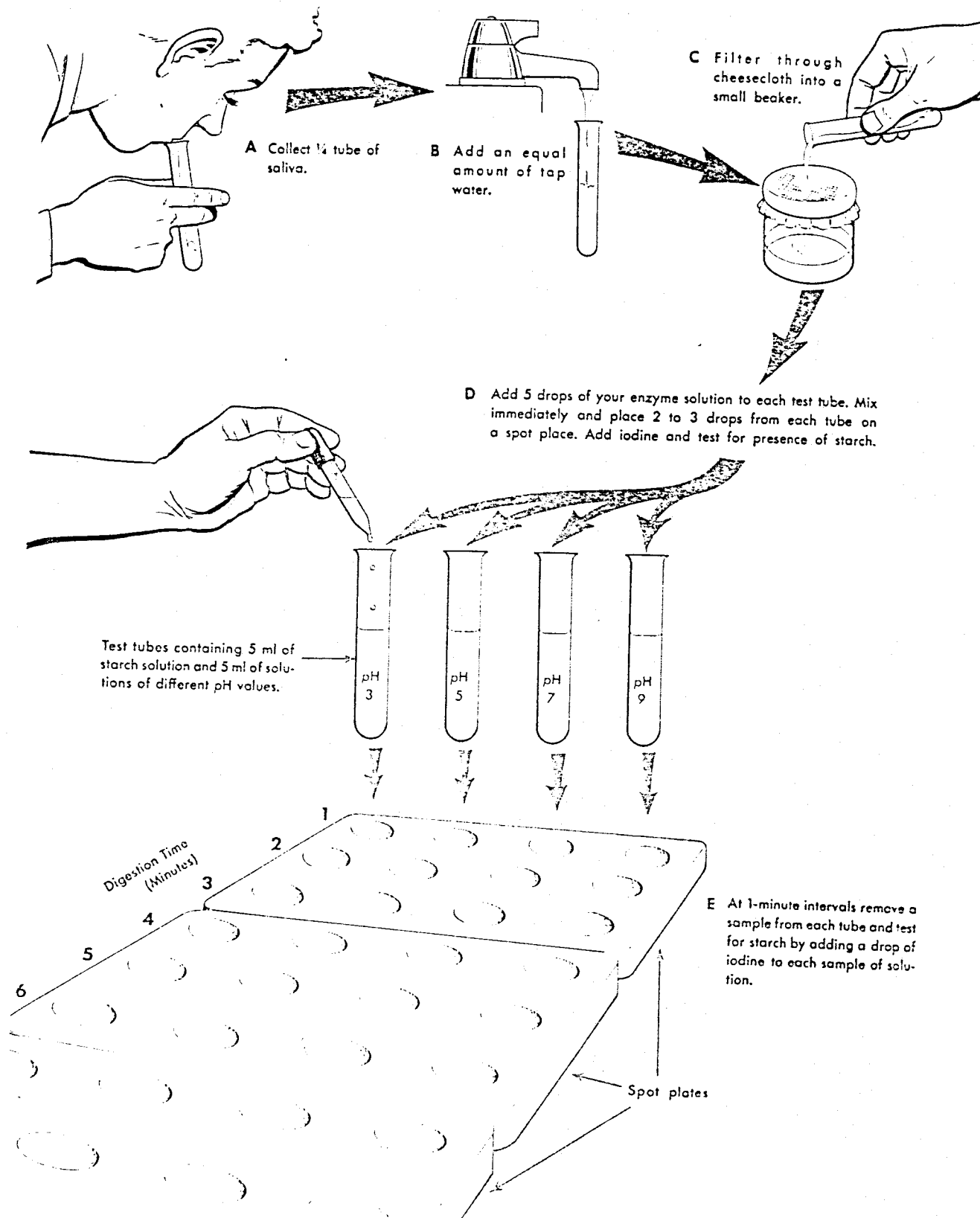
Gambar: Prosedur Tes Gula dan Amilum



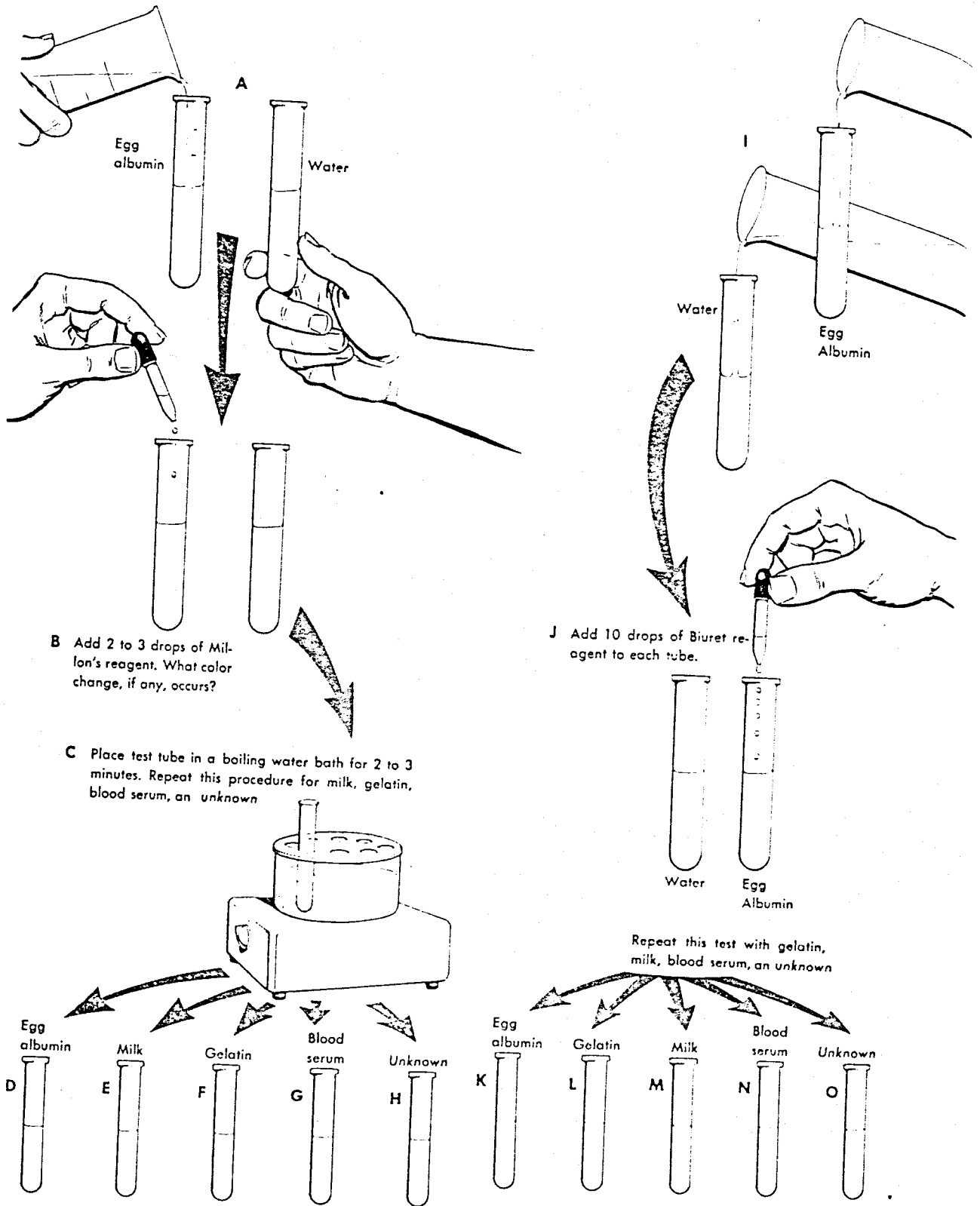
Gambar: Pencernaan Karbohidrat



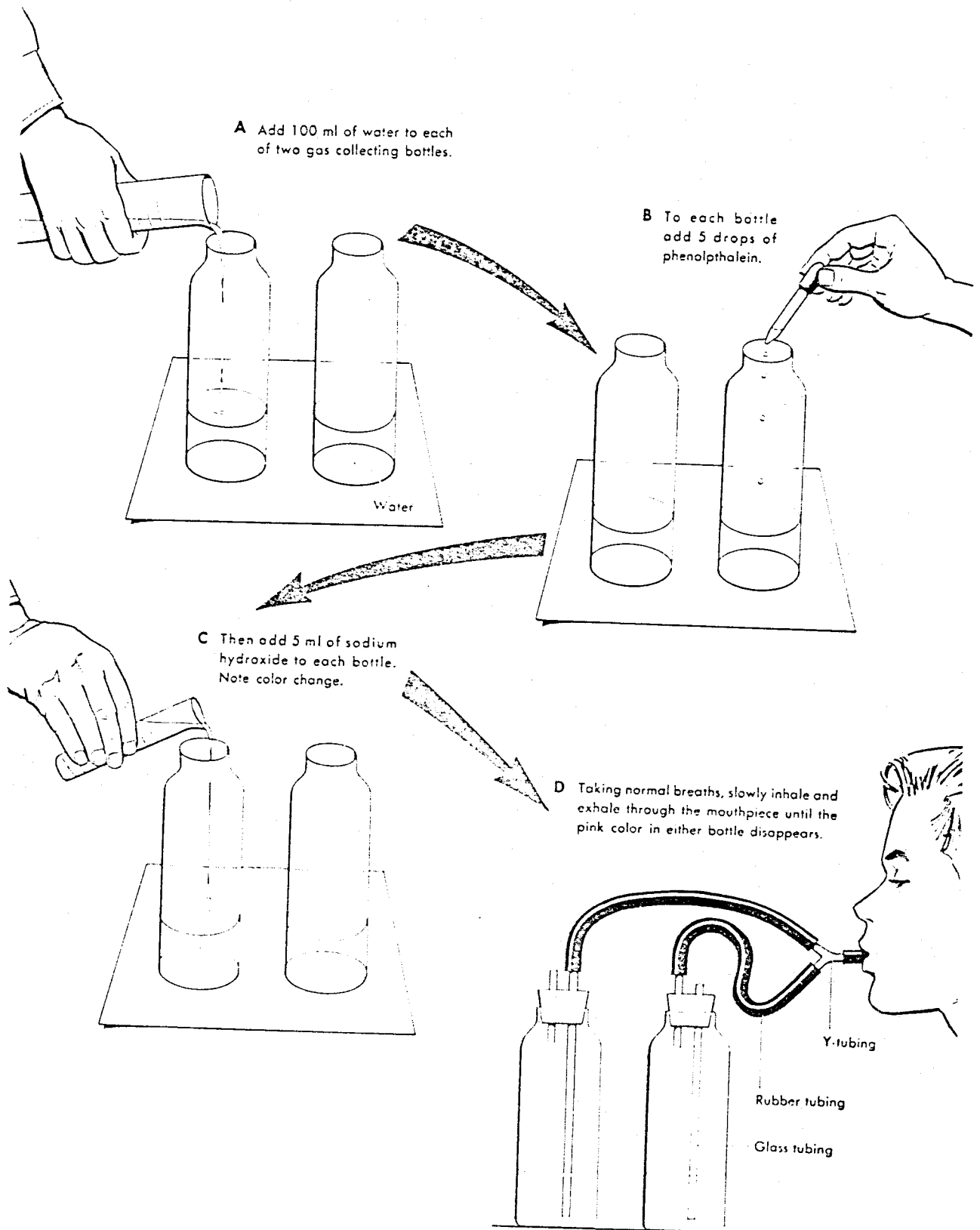
Gambar: pH Optimum bagi aktifitas amilase liur



Gambar: Tes Protein

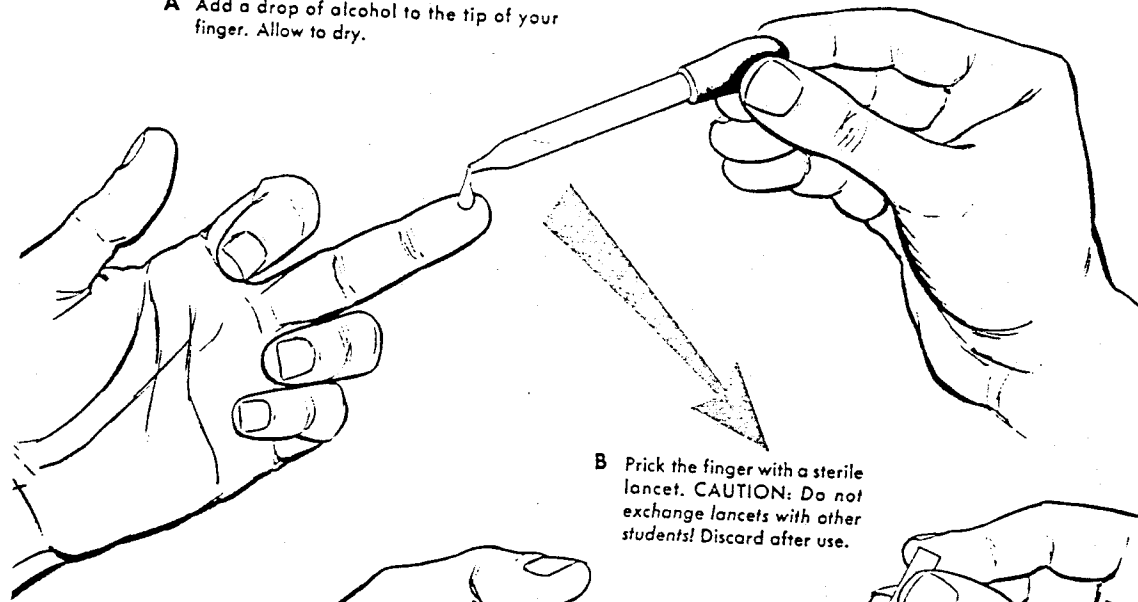


Gambar: Membuktikan Pembentukan CO₂ selama Respirasi

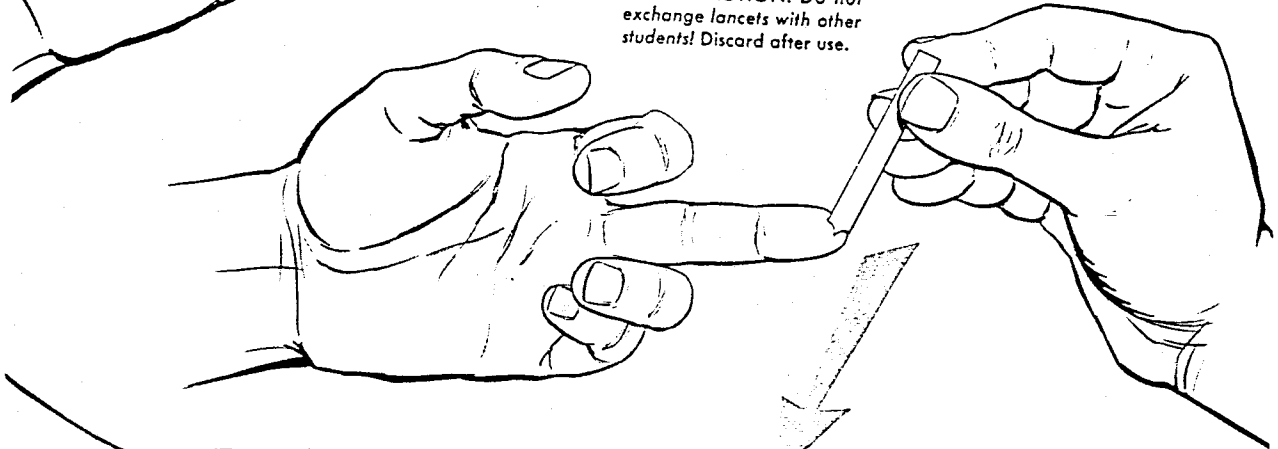


Gambar: Cara Medapatkan Sampel Darah

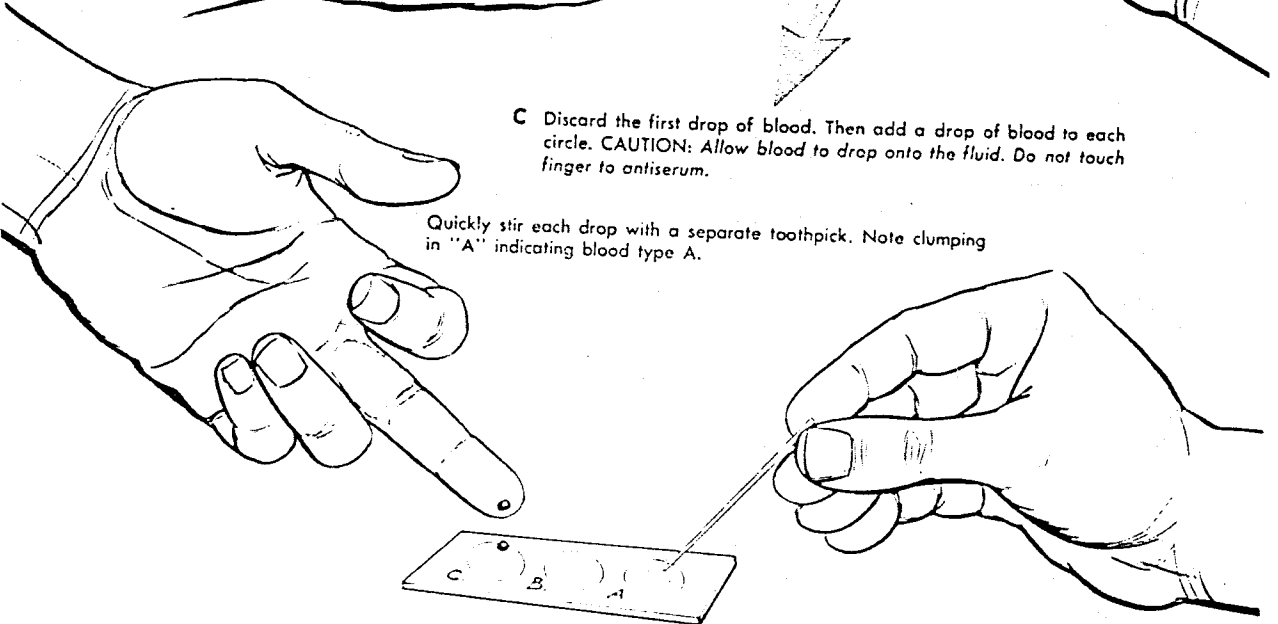
A Add a drop of alcohol to the tip of your finger. Allow to dry.



B Prick the finger with a sterile lancet. CAUTION: Do not exchange lancets with other students! Discard after use.

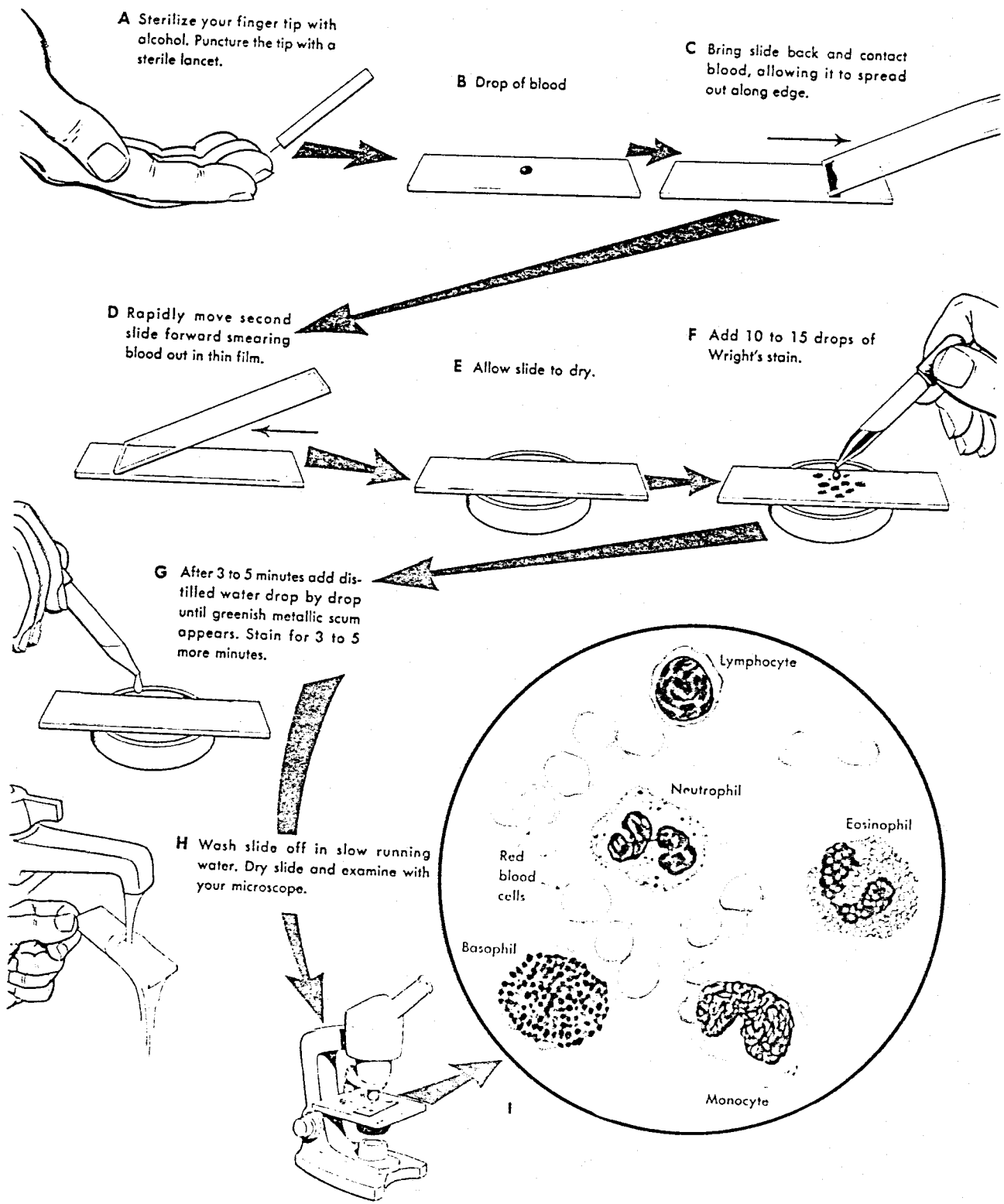


C Discard the first drop of blood. Then add a drop of blood to each circle. CAUTION: Allow blood to drop onto the fluid. Do not touch finger to antiserum.

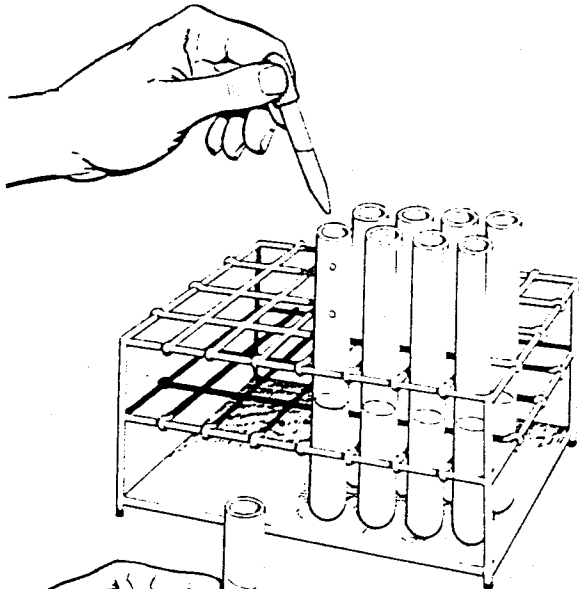


Quickly stir each drop with a separate toothpick. Note clumping in "A" indicating blood type A.

Gambar: Pembuatan sediaan apus darah



Gambar: Penentuan Waktu Hemolisis



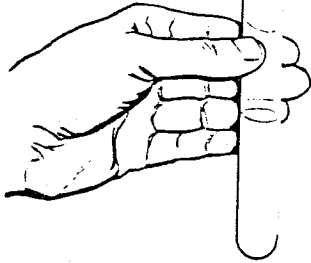
A Add 2 drops of a red blood cell suspension to separate test tubes containing 2 milliliters of:

EFFECT OF MOLECULAR WEIGHT

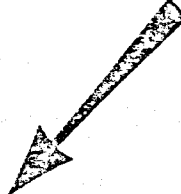
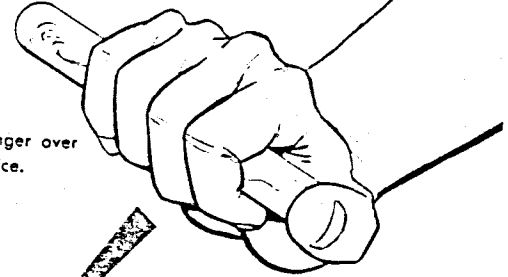
- Tube 1—Urea
- Tube 2—Ethylene glycol
- Tube 3—Glycerol
- Tube 4—Glucose

EFFECT OF LIPOID SOLUBILITY

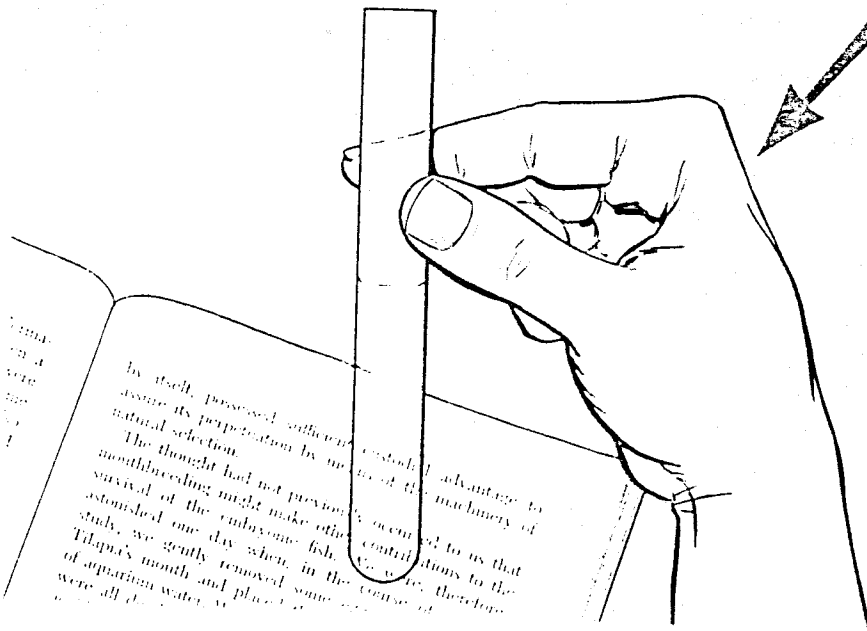
- Tube 1 — Methyl alcohol
- Tube 2 — Ethyl alcohol
- Tube 3 — Propyl alcohol



B Mix each tube by holding your finger over the tube and inverting it once or twice.



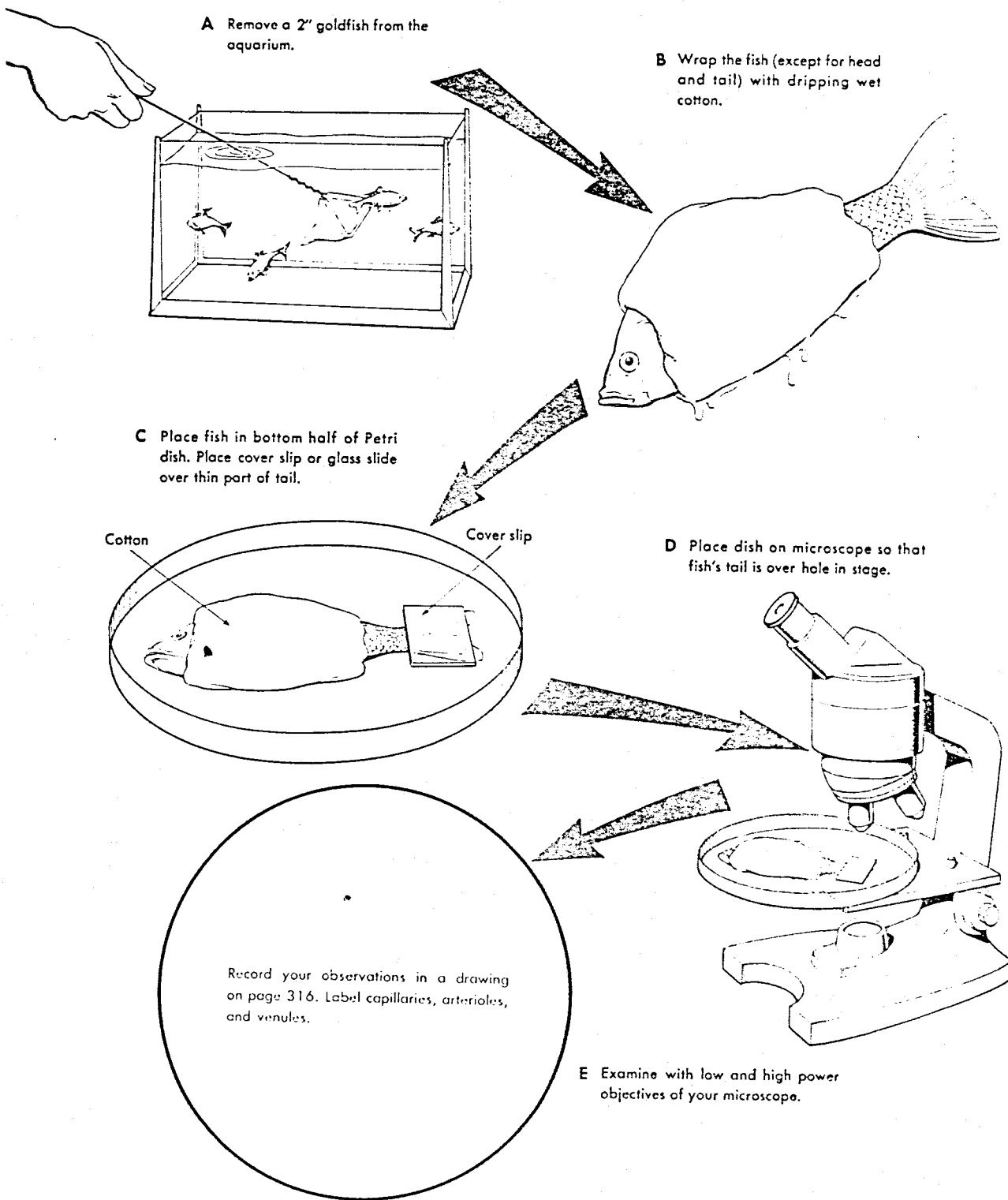
C Then hold each tube flat against a sheet of printed paper. The time it takes for the printing to become plainly readable is taken as the length of time it takes for hemolysis to occur.



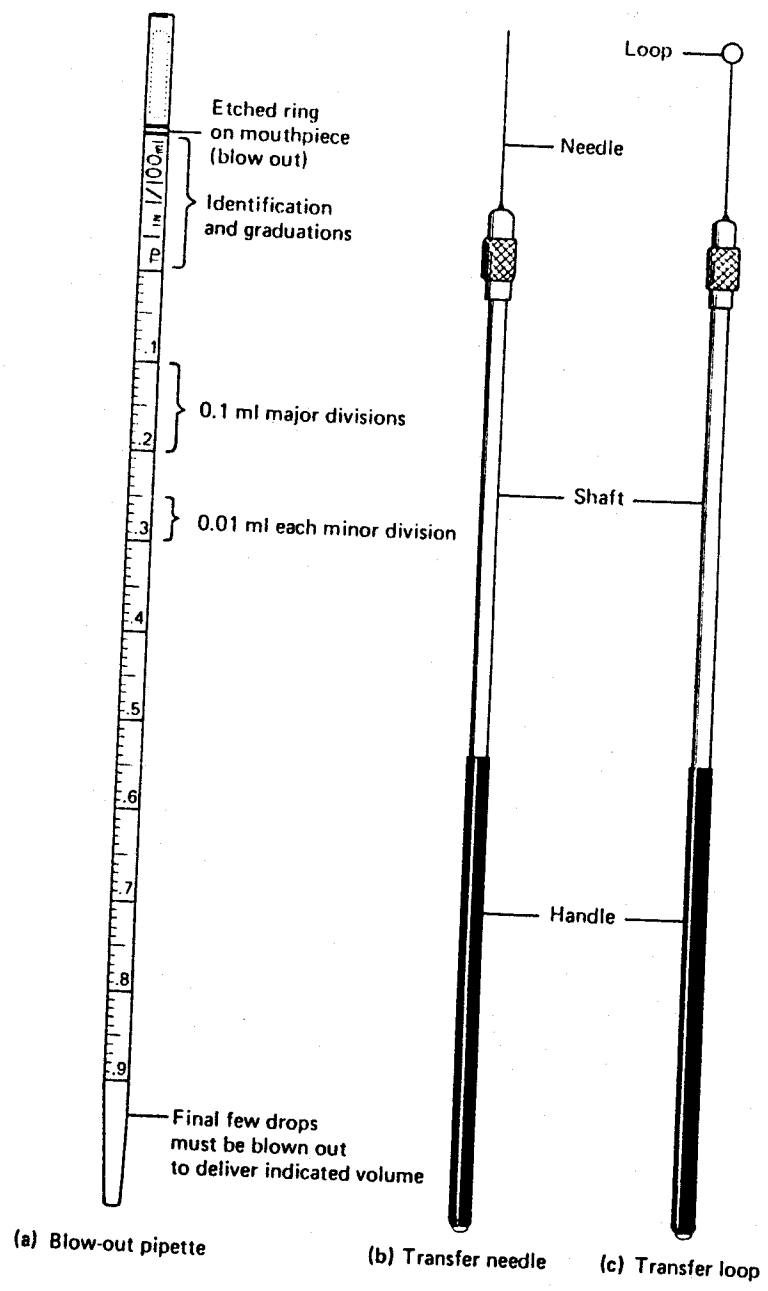
...by itself, possessed sufficient ... advantage to ...
 ...its perpetuation by means of the machinery of ...
 ...natural selection.
 ...The thought had not previously occurred to us that ...
 ...mouthbreeding might make other contributions to the ...
 ...survival of the embryonic fish. We were, therefore, ...
 ...astonished one day when, in the course of ...
 ...Tilapia's mouth and placed some ...
 ...of aquarium water, ...
 ...were all ...

MILIK UPT PERPUSTAKAAN IKIP PADANG

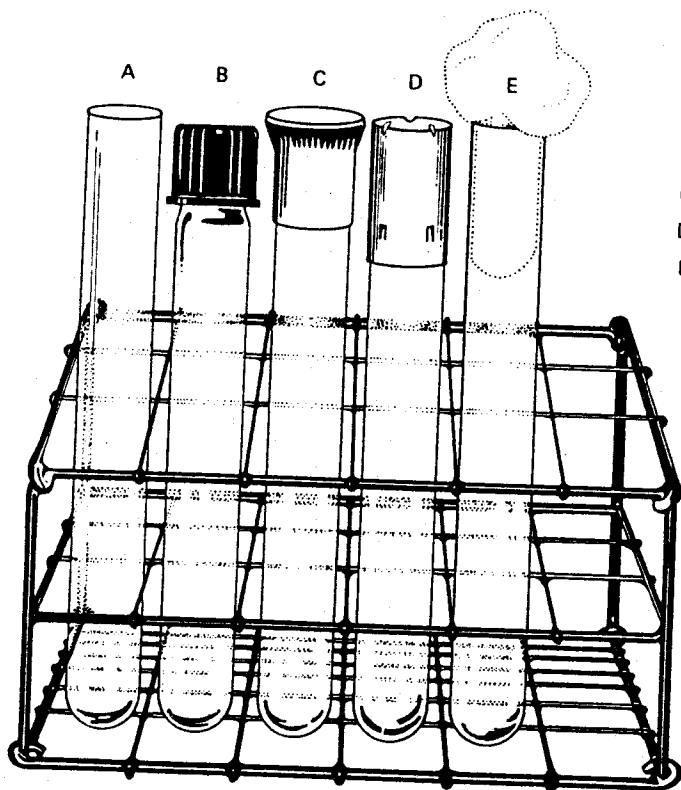
Gambar: Prosedur Pemeriksaan Sirkulasi Kapiler pada Ikan Mas



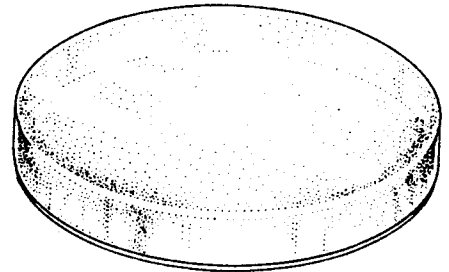
Gambar: Instrumen Pemindahan



Gambar: Rak dan Tes Tube dengan berbagai penutup

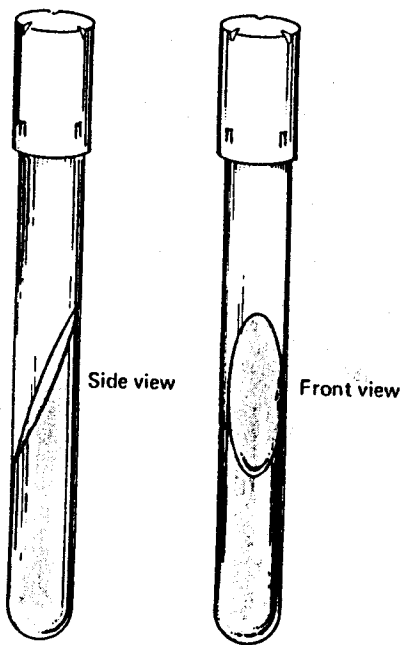
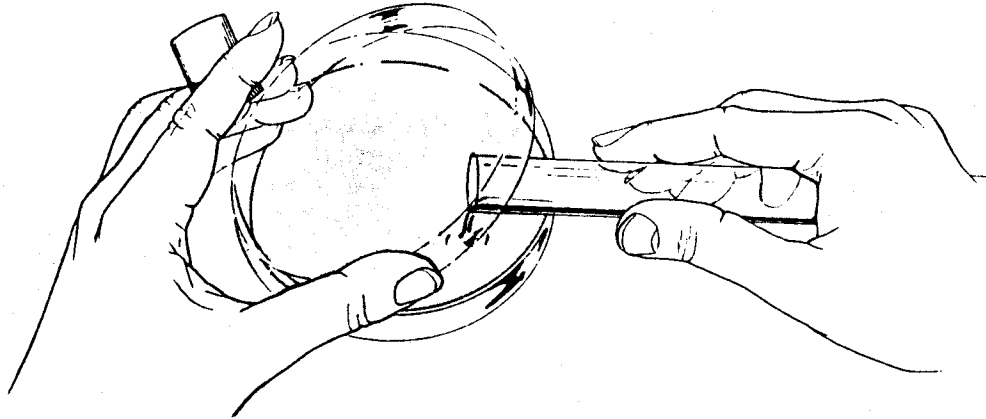


- A. Bacteriological tube
- B. Screw cap
- C. Plastic closure
- D. Metal closure
- E. Nonabsorbent cotton

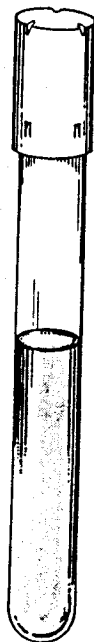


(b) Petri dish

Gambar: Teknik Menuang Agar Piring dan Macam Media Agar



(a) Agar slants

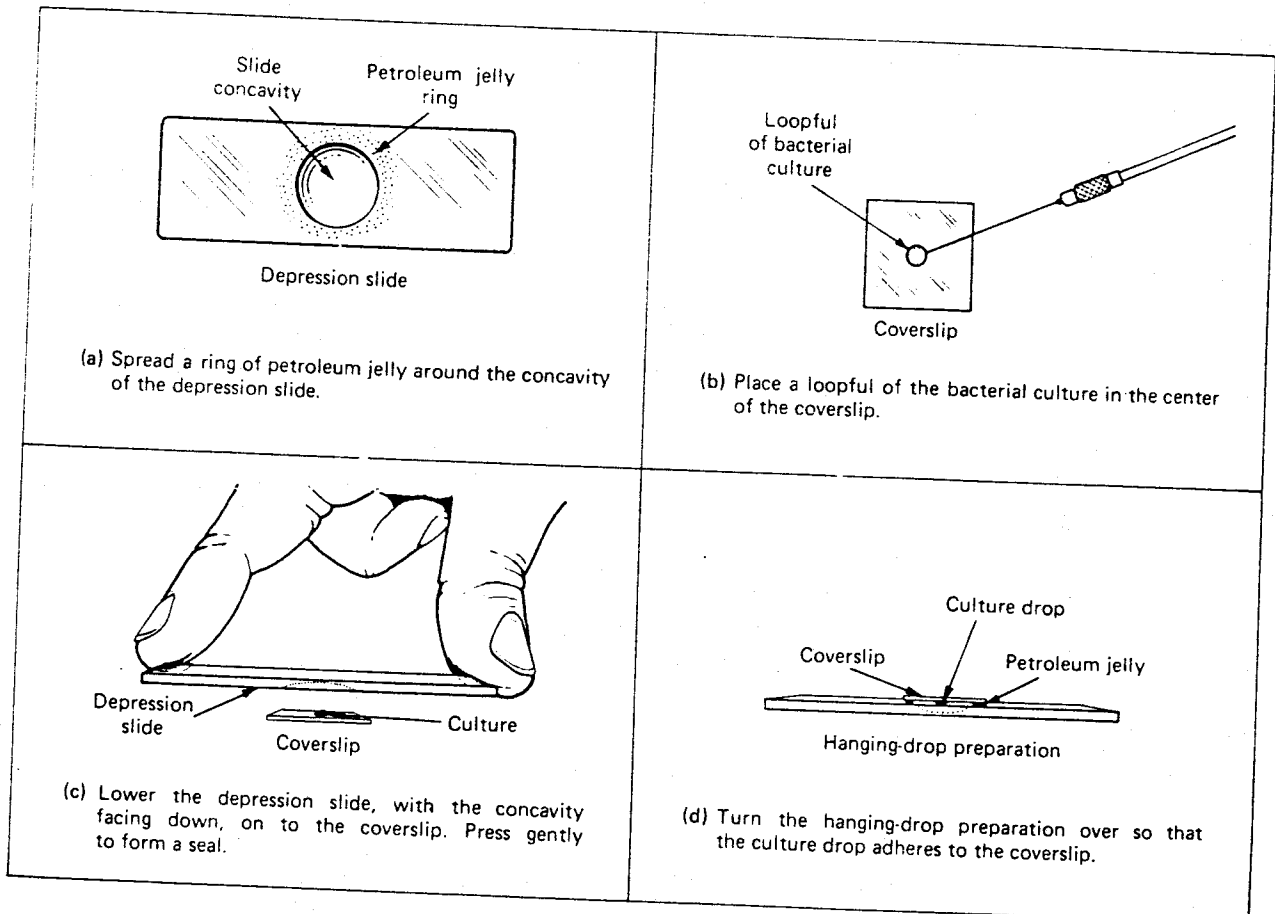


(b) Agar deep tube

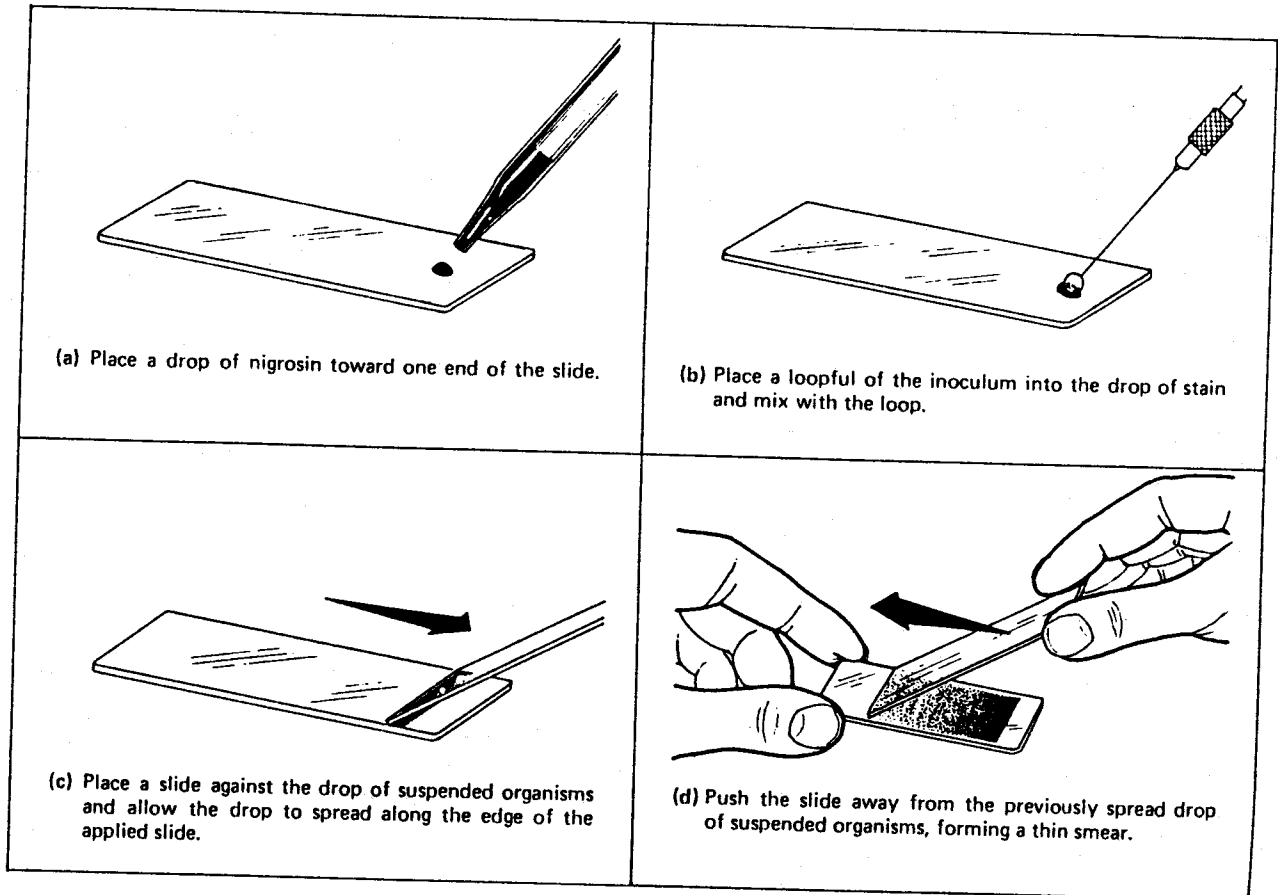


(c) Agar plate

Gambar: Preparat Gantung

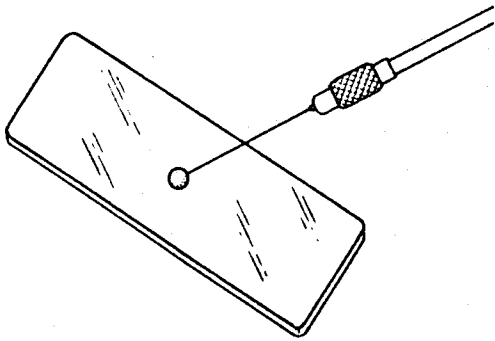


Gambar: Langkah-langkah Pewarnaan Negatif



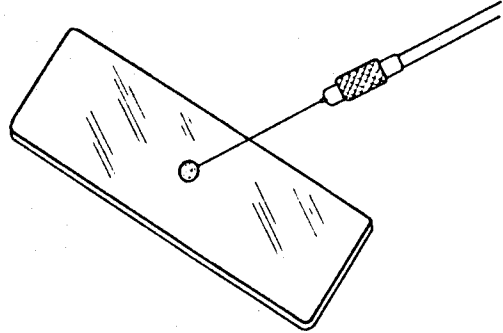
Gambar: Pereparat Olesan Bakteri

From liquid media

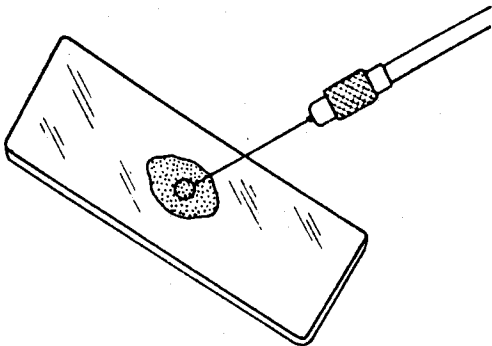


(a) Place one to two loopfuls of the cell suspension on the clean slide.

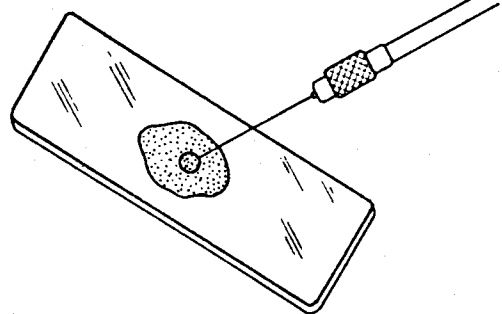
From solid media



(a) Take one drop of water on the loop and place it on the center of the slide.

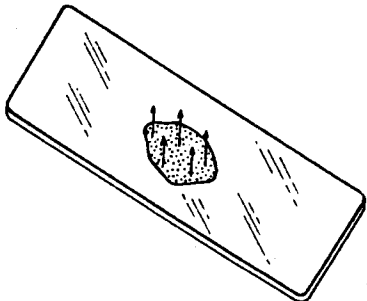


(b) With a circular movement of the loop, spread the suspension into a thin area approximately the size of a dime.

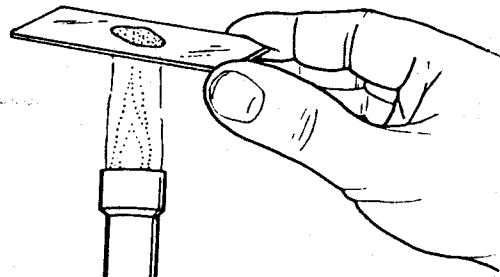


(b) Transfer a small amount of the bacterial inoculum from the slant culture into the drop of water. Spread both into a thin area approximately the size of a nickel.

Fixation

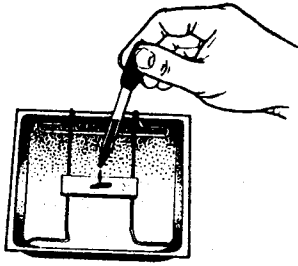


(c) Allow the smear to air dry.

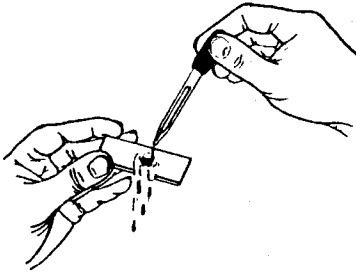


(d) While holding the slide at one end, quickly pass the smear over the flame of the Bunsen burner two to three times.

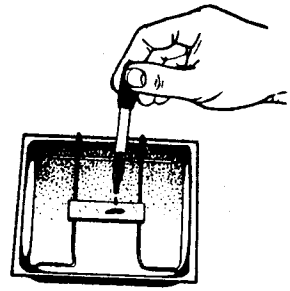
Gambar: Prosedur Pewarnaan Gram



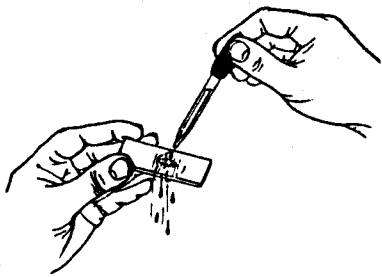
(a) Stain with crystal violet for one minute.



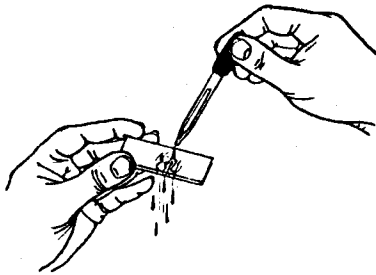
(b) Wash off the stain with tap water.



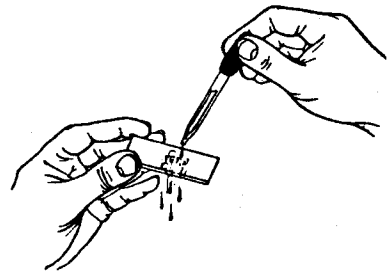
(c) Apply Gram's iodine for one minute.



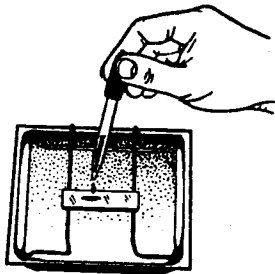
(d) Wash off the Gram's iodine with tap water.



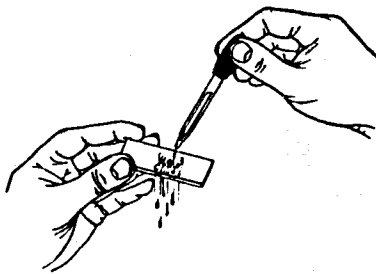
(e) Add 95% alcohol drop by drop until the alcohol runs clear.



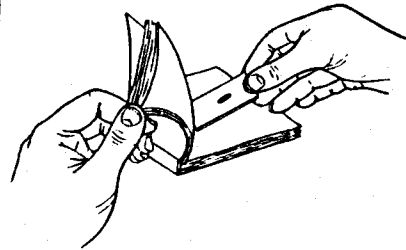
(f) Wash off the 95% alcohol with tap water.



(g) Counterstain with safranin for 45 seconds.

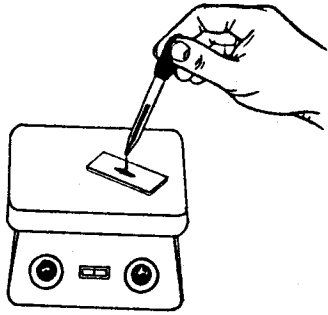


(h) Wash off the safranin with tap water.



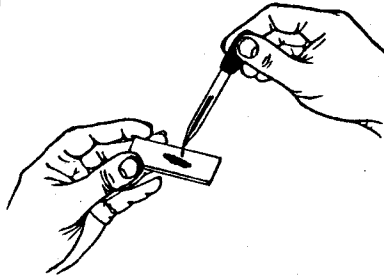
(i) Blot dry with bibulous paper.

Gambar: Prosedur Pewarnaan Bakteri Tahan Asam

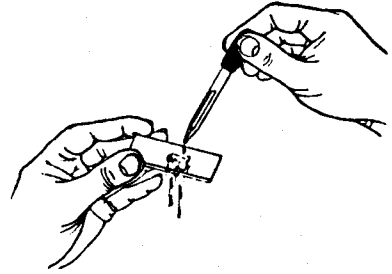


(a) Heat method: Apply carbol fuchsin and heat for 5 minutes. Do not allow the stain to evaporate.

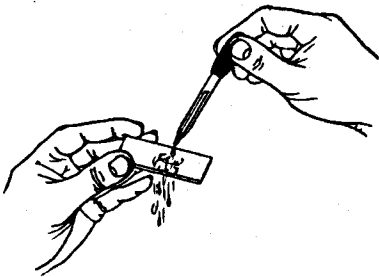
or



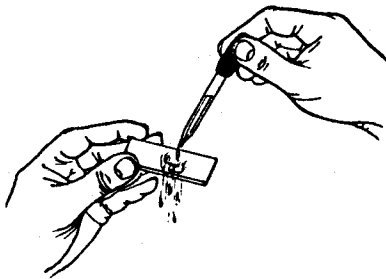
Heatless method: Apply carbol fuchsin with Turgitol for 3 to 5 minutes.



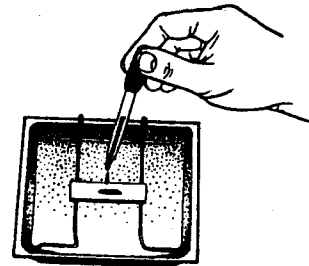
(b) Cool and wash off stain with tap water.



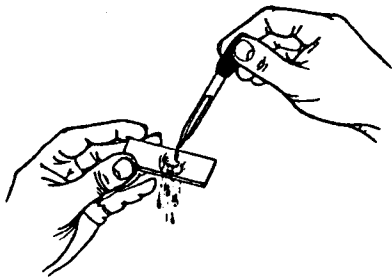
(c) Add acid-alcohol drop by drop until the alcohol runs clear.



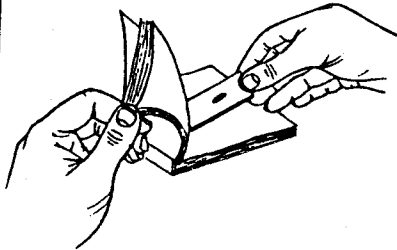
(d) Wash off the acid-alcohol with tap water.



(e) Counterstain with methylene blue for 2 minutes.

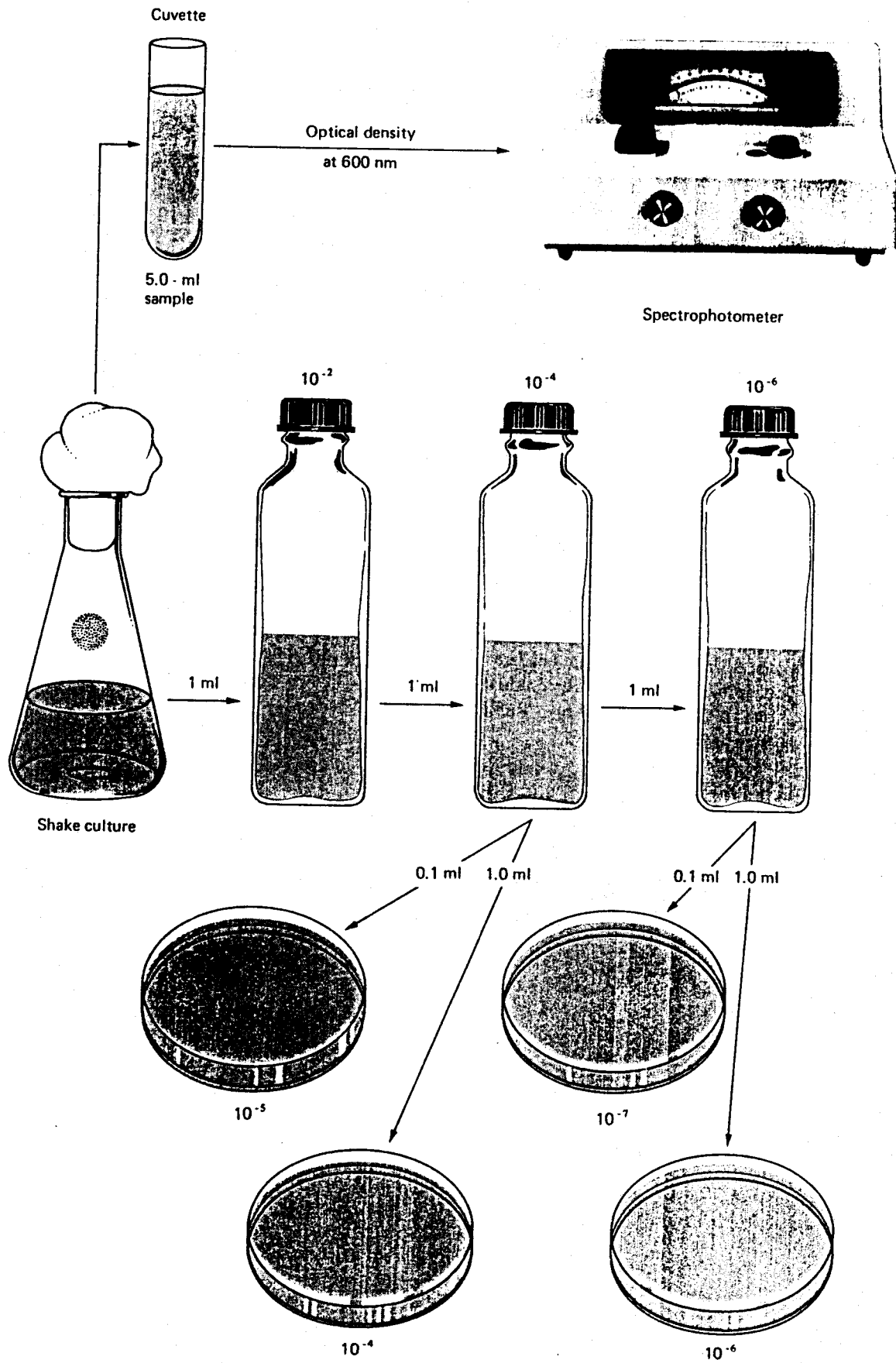


(f) Wash off the methylene blue with tap water.

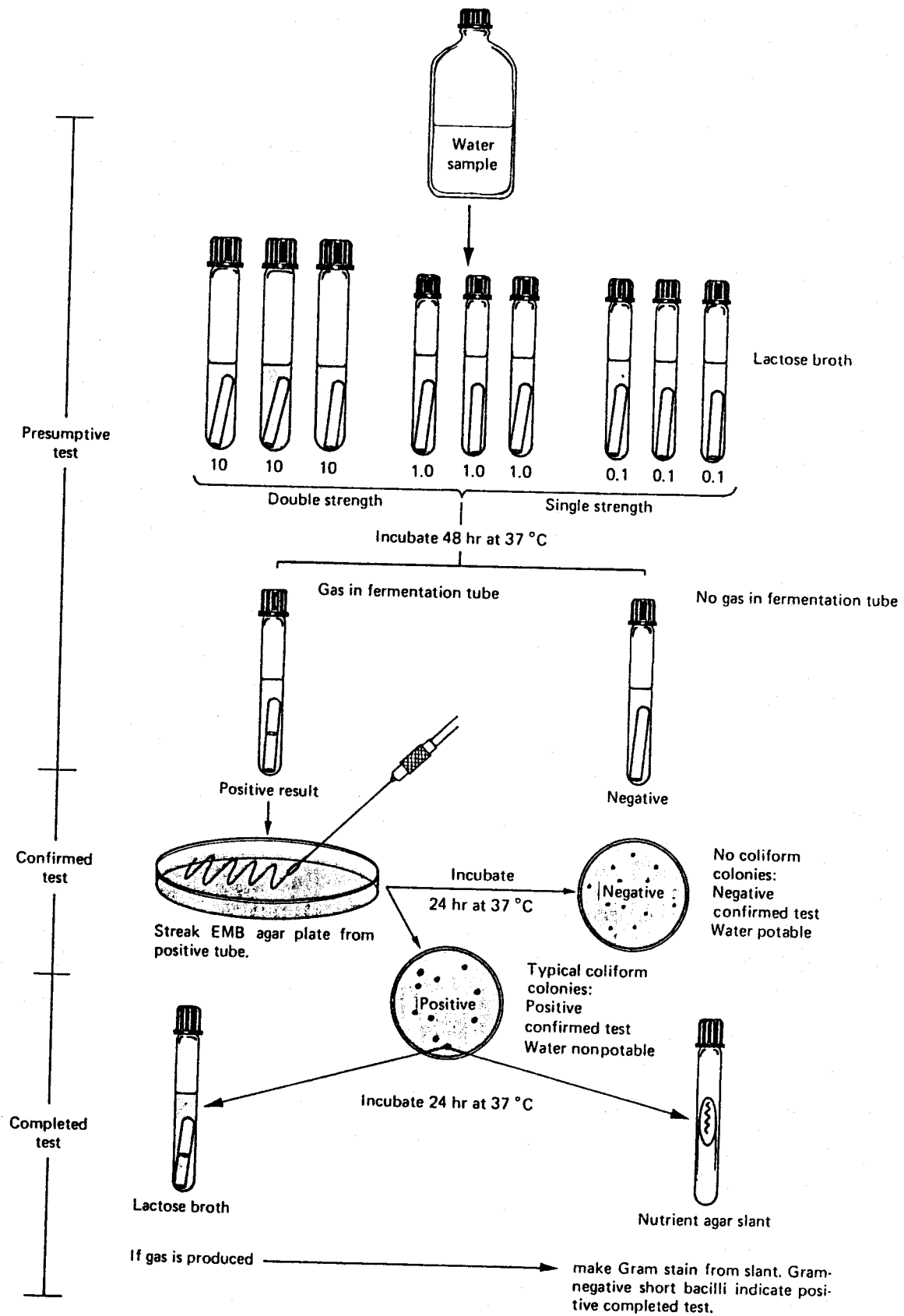


(g) Blot the slide dry with bibulous paper.

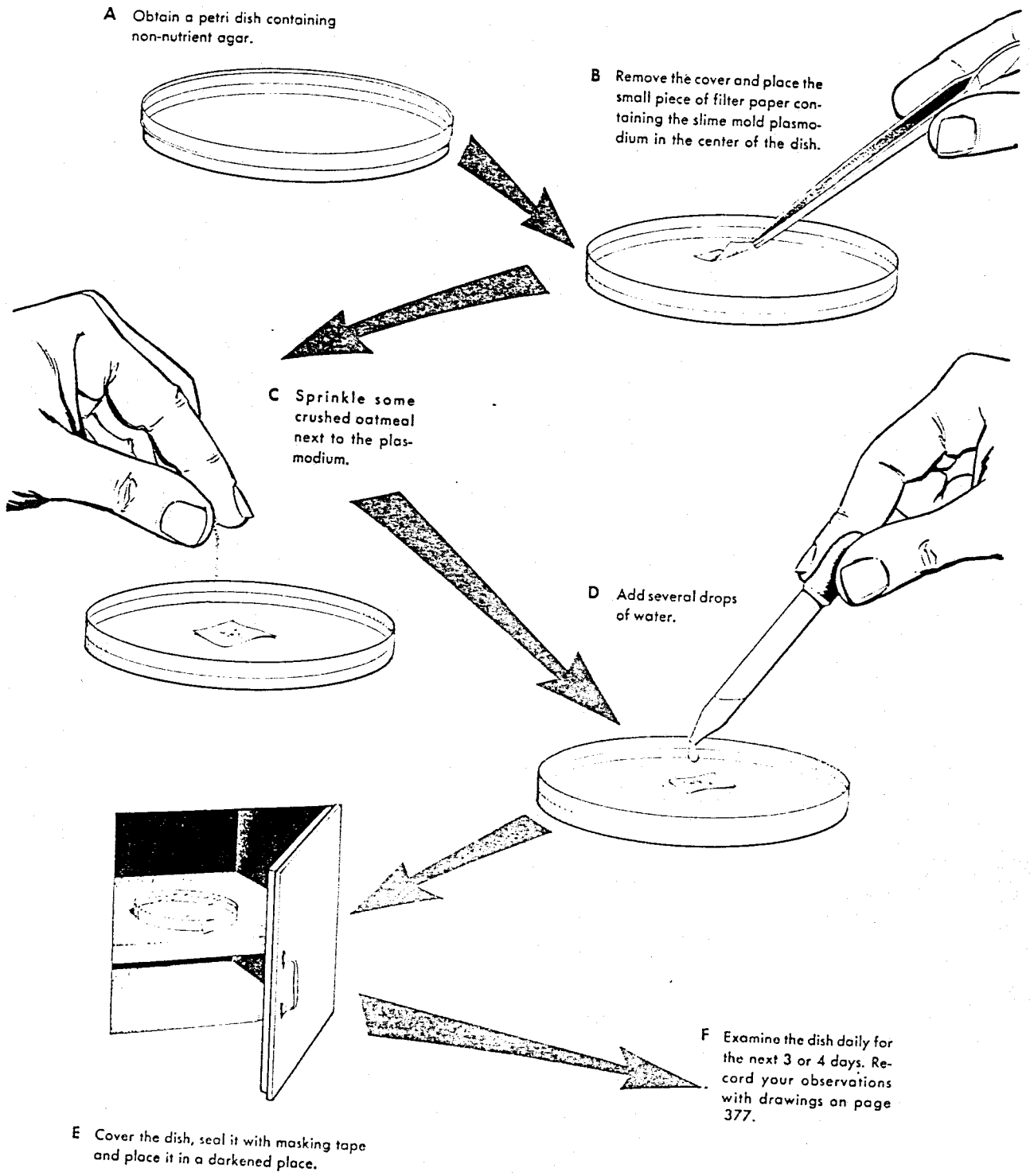
Gambar: Mengukur Pertumbuhan Bakteri Melalui Pengenceran dan Metode Spektroskop



Gambar: Langkah-langkah Standar Analisis Mikroba Air



Gambar: Teknik Pertumbuhan Slime Mold



Gambar: Spora. Tipe-tipe Sporangium serta Ciri-ciri Fungi

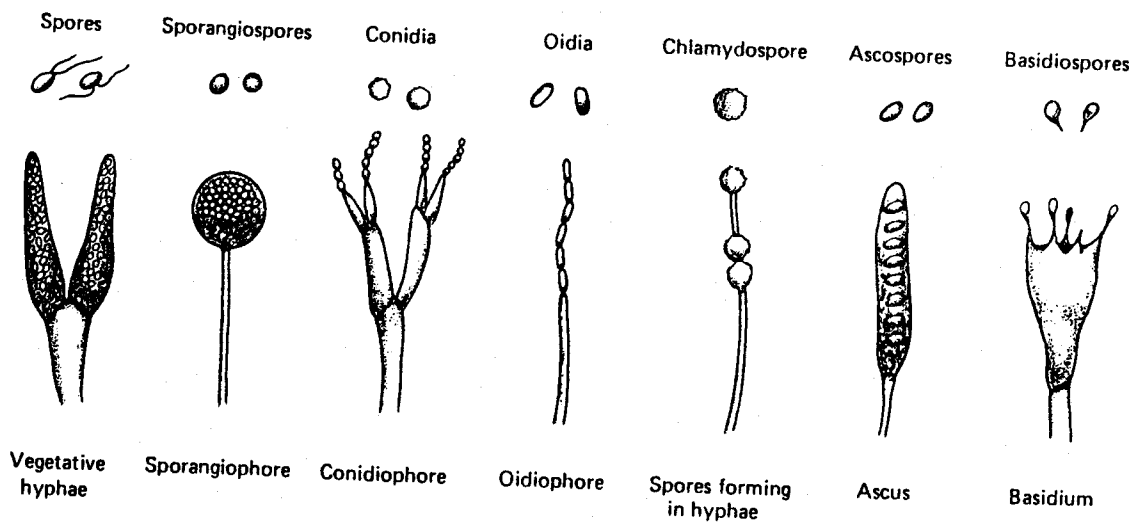
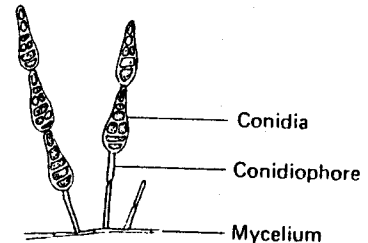
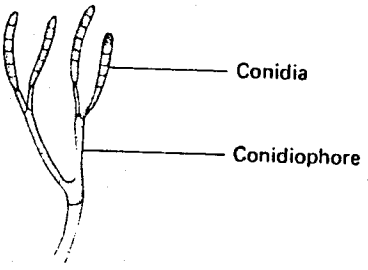
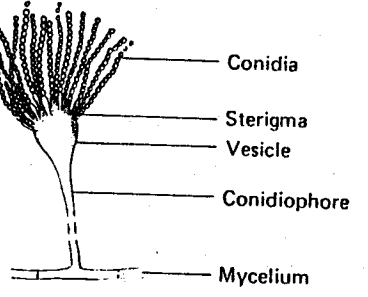
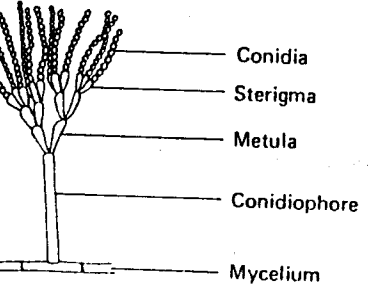
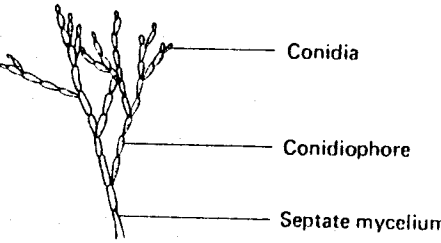
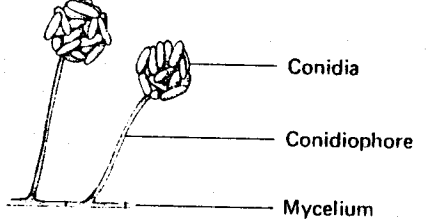
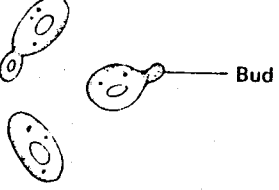
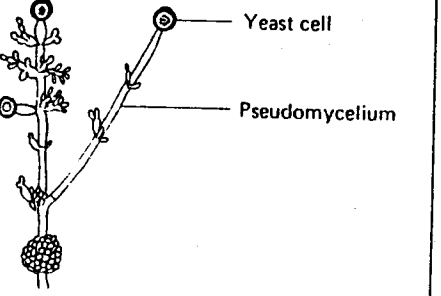


Diagram	Colonial morphology	Microscopic appearance
<p>Molds</p> <p>RHIZOPUS: BLACK BREAD MOLD; COMMON LABORATORY CONTAMINANT</p>	<p>Rapidly growing white-colored fungus swarms over entire plate; aerial mycelium cottony and fuzzy</p>	<p>Spores are oval, colorless or brown; nonseptate mycelium gives rise to straight sporangiophores that terminate with black sporangium containing a columella; rootlike hyphae (rhizoids) penetrate the medium</p>
<p>MUCOR: FOOD CONTAMINANT</p>	<p>Resembles the colonies of <i>Rhizopus</i></p>	<p>Spores are oval; nonseptate mycelium gives rise to single sporangiophores with globular sporangium containing a columella; there are no rhizoids</p>

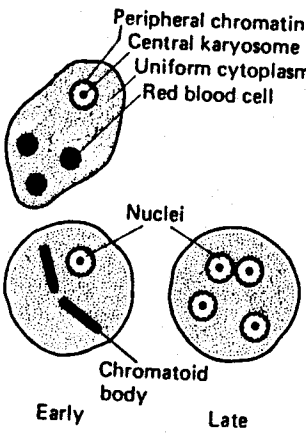
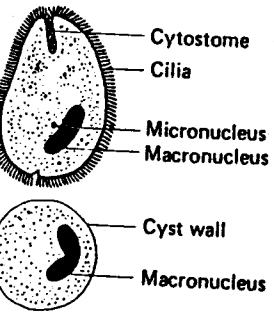
(lanjutan) (cont.)

Diagram	Colonial morphology	Microscopic appearance
<p>Molds</p>  <p>Labels: Conidia, Conidiophore, Mycelium</p> <p>ALTERNARIA: NORMALLY FOUND ON PLANT MATERIAL</p>	<p>Grayish-green or black colonies with gray edges rapidly swarming over entire plate; aerial mycelium not very dense, appears grayish to white</p>	<p>Multicelled spores (conidia) are pear-shaped and attached to single conidiophores arising from a septate mycelium</p>
 <p>Labels: Conidia, Conidiophore</p> <p>FUSARIUM: FOUND IN SOIL</p>	<p>Woolly, white, fuzzy colonies changing color to pink, purple, or yellow</p>	<p>Multicelled spores (conidia) are oval or crescent-shaped and attached to conidiophores arising from a septate mycelium</p>
 <p>Labels: Conidia, Sterigma, Vesicle, Conidiophore, Mycelium</p> <p>ASPERGILLUS: PLANT AND ANIMAL PATHOGENS; SOME SPECIES USED INDUSTRIALLY</p>	<p>White colonies become greenish-blue, black, or brown as culture matures</p>	<p>Single-celled spores (conidia) in chains developing at the end of the sterigma arising from the terminal bulb of the conidiophore, the vesicle; long conidiophores arise from a septate mycelium</p>
 <p>Labels: Conidia, Sterigma, Metula, Conidiophore, Mycelium</p> <p>PENICILLIUM: ANTIBIOTIC-PRODUCING CITRUS FRUIT CONTAMINANT; SOIL INHABITANT</p>	<p>Mature cultures usually greenish or blue-green</p>	<p>Single-celled spores (conidia) in chains develop at the end of the sterigma arising from the metula of the conidiophore; branching conidiophores arise from a septate mycelium</p>

(lanjutan) (cont.)

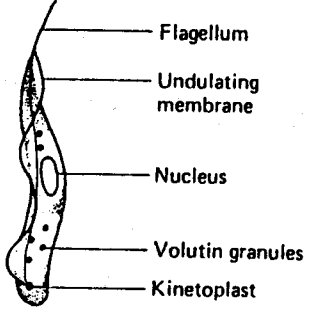
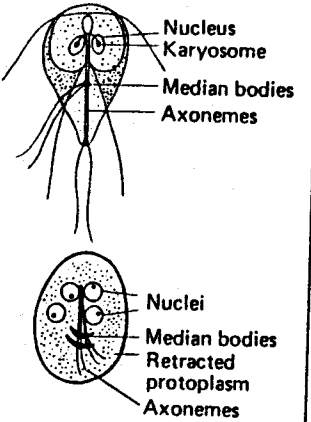
Diagram	Colonial morphology	Microscopic appearance
 <p>Conidia Conidiophore Septate mycelium</p> <p>CLADOSPORIUM: DEAD AND DECAYING PLANTS</p>	<p>Small, heaped colonies are greenish-black and powdery</p>	<p>Spores (conidia) develop at the end of complex conidiophores arising from a septate mycelium that is usually brownish</p>
 <p>Conidia Conidiophore Mycelium</p> <p>CEPHALOSPORUM: ANTIBIOTIC PRODUCTION</p>	<p>Rapidly growing compact and moist colonies becoming cottony with aerial hyphae that are gray or rose-colored</p>	<p>Single-celled conical or elliptical spores (conidia) held together in clusters at the tips of the conidiophores by a mucoid substance; erect, unbranched conidiophores arise from a septate mycelium</p>
<p>Yeast</p>  <p>Bud</p> <p>TORULA: CHEESE AND FOOD CONTAMINANT</p>	<p>Colonies are pink, moist, with unbroken, even edges</p>	<p>Cells are oval, colorless, and reproduce by budding</p>
 <p>Yeast cell Pseudomycelium</p> <p>CANDIDA: HUMAN PATHOGEN</p>	<p>Colonies are small, round, moist, and colorless, with unbroken, even edges</p>	<p>Yeastlike fungus produces pseudomycelium</p>

Gambar: Ciri-ciri Golongan Protozoa Parasit

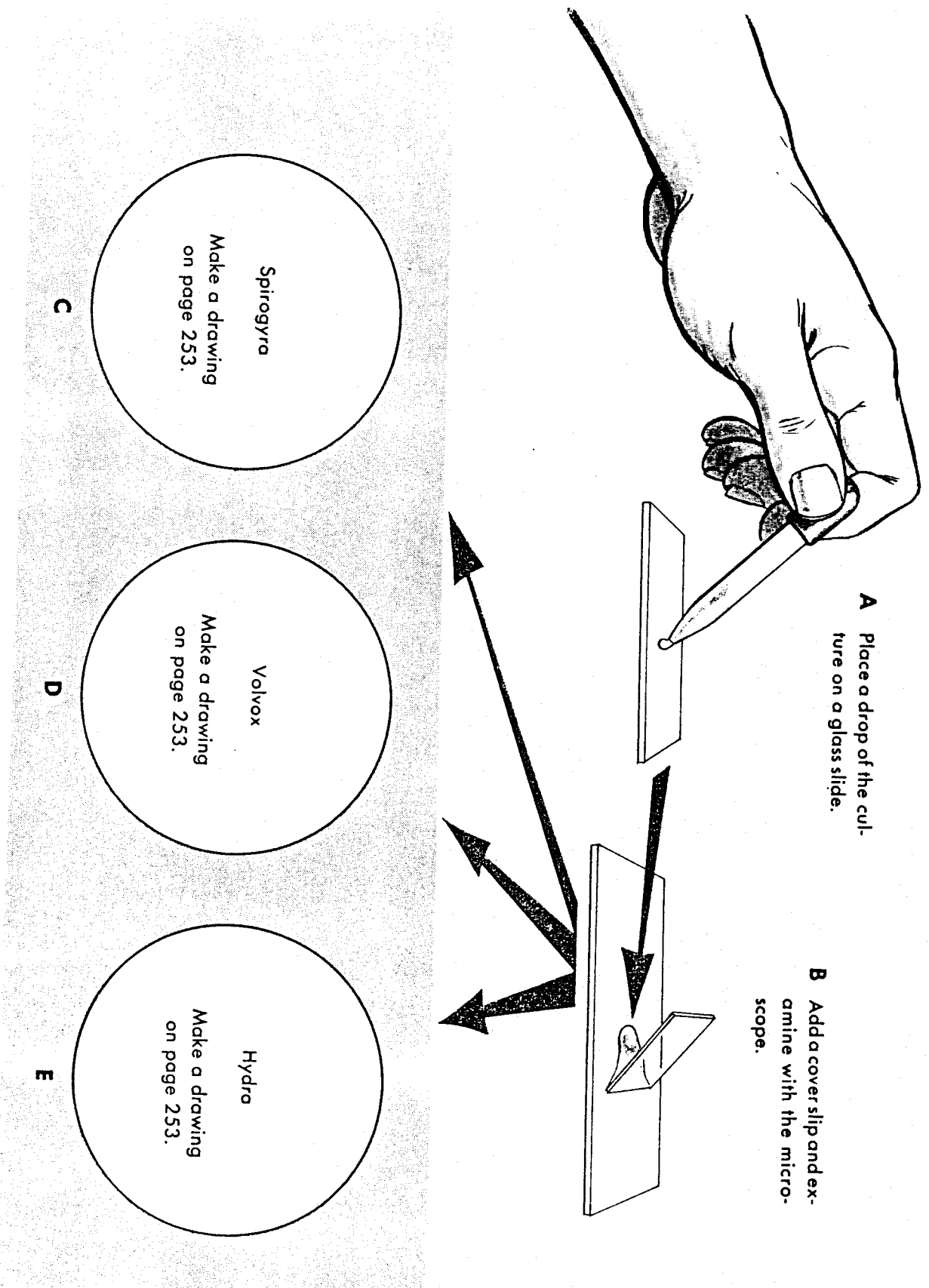
Class, organism, and infection	Structural characteristics	Locomotor organelles	Site of infection	Isolation of parasitic form
<p><i>Sarcodina</i> <i>ENTAMOEBIA HISTOLYTICA</i> INFECTION: AMOEBIC DYSENTERY</p>  <p>Peripheral chromatin Central karyosome Uniform cytoplasm Red blood cell</p> <p>Nuclei Chromatoid body</p> <p>Early Late</p>	<p>Trophozoite: Shape: Variable Nucleus: Discrete nuclear membrane with central karyosome and peripheral chromatin granules Cytoplasm: Clear, red blood cells may be present</p> <p>Cyst: Shape: Round to oval with thick wall Nuclei: 1-4 present; mature cyst is quadrinucleated Chromatoid bodies: Sausage-shaped with rounded ends present in young cysts only</p>	<p>Pseudopods</p> <p>None</p>	<p>Large intestine by ingestion of mature cysts</p>	<p>Diarrhetic stool</p> <p>Formed stool</p>
<p><i>Ciliophora</i> <i>BALANTIDIUM COLI</i> INFECTION: DYSENTERY</p>  <p>Cytostome Cilia Micronucleus Macronucleus</p> <p>Cyst wall Macronucleus</p>	<p>Trophozoite: Shape: Oval Nuclei: Kidney-shaped macronucleus and a micronucleus Cytoplasm: Vacuolated</p> <p>Cyst: Shape: Round and thick-walled Nuclei: 1 macronucleus and a micronucleus that is not visible</p>	<p>Cilia</p> <p>Cilia within cyst</p>	<p>Large intestine by the ingestion of cysts</p>	<p>Diarrhetic stool</p> <p>Formed stool</p>

MILIK UPT PERPUSTAKAAN
IKIP PADANG

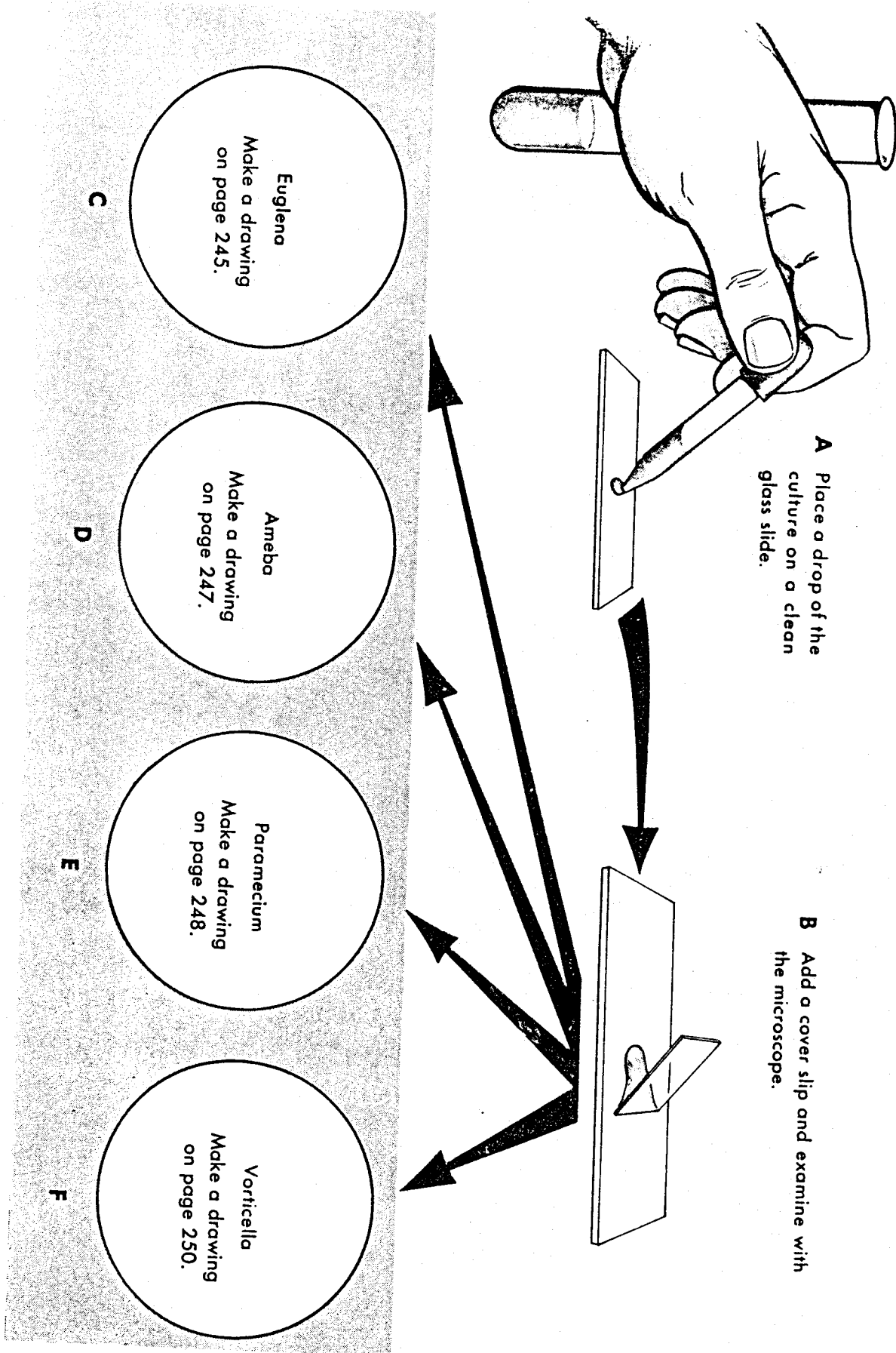
(lanjutan)

Class, organism, and infection	Structural characteristics	Locomotor organelles	Site of infection	Isolation of parasitic form
<p>Mastigophora TRYPANOSOMA GAMBIENSE INFECTION: AFRICAN SLEEPING SICKNESS</p>  <p>Flagellum Undulating membrane Nucleus Volutin granules Kinetoplast</p>	<p>Trophozoite: Shape: Crescent Nucleus: Large, central, and polymorphic Cytoplasm: Granular Cyst: None</p>	<p>Single flagellum along undulating membrane</p>	<p>Peripheral blood stream by means of tsetse fly vector</p>	<p>Peripheral blood</p>
<p>GIARDIA LAMBLIA INFECTION: DYSENTERY</p>  <p>Nucleus Karyosome Median bodies Axonemes</p> <p>Nuclei Median bodies Retracted protoplasm Axonemes</p>	<p>Trophozoite: Shape: Pear-shaped with concave sucking disc Nuclei: 2 bilaterally located with central karyosome and no peripheral chromatin Cytoplasm: Uniform and clear Cyst: Shape: Oval to ellipsoidal Nuclei: 2-4 present and protoplasm retracted from cyst wall Axostyle Parabasal body</p>	<p>4 pairs of flagella</p> <p>4 pairs of flagella within cyst</p>	<p>Small intestine through ingestion of cysts</p>	<p>Diarrhetic stool</p> <p>Formed stool</p>

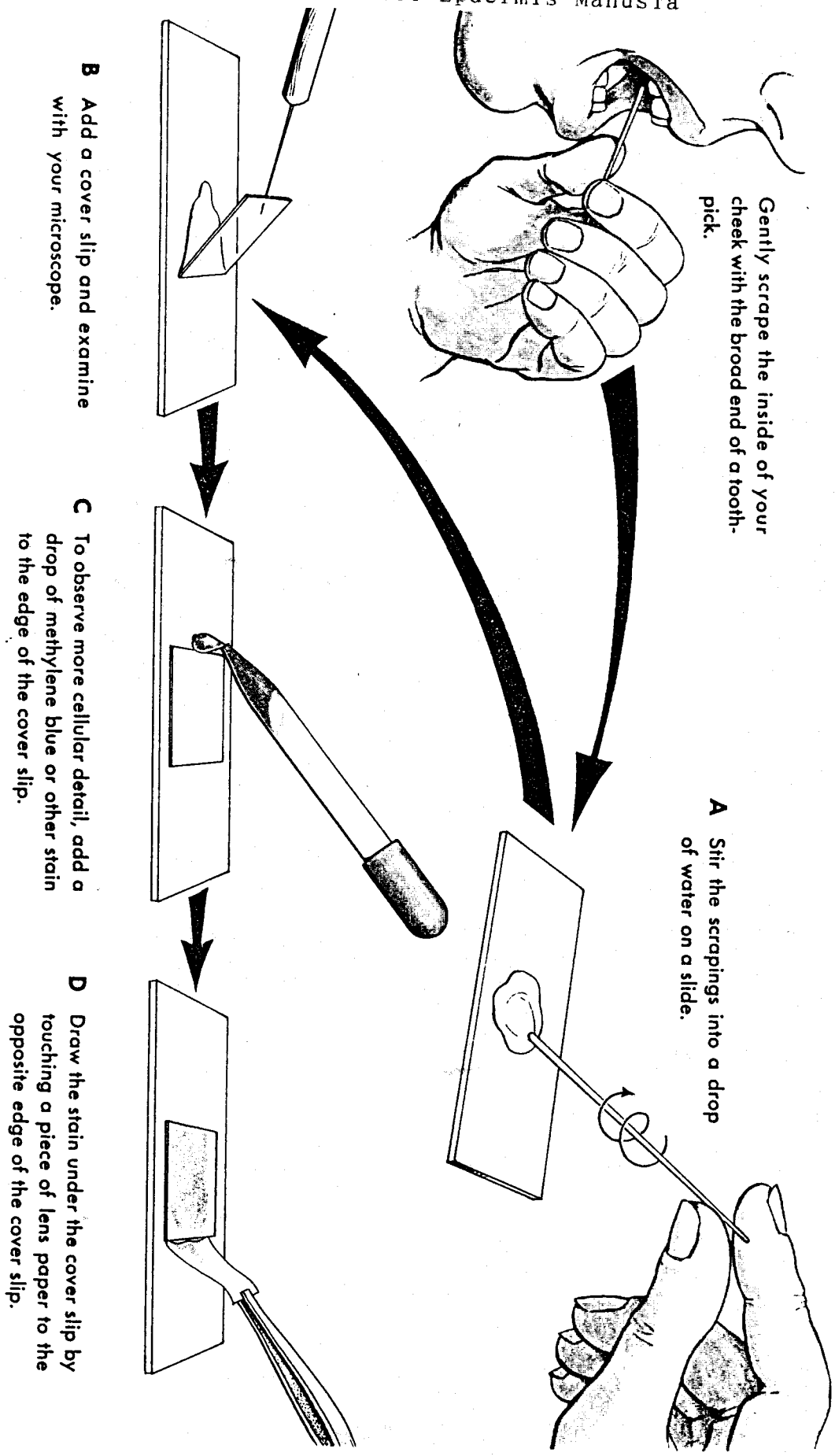
Gambar: Studi Beberapa Organisma Multiselular



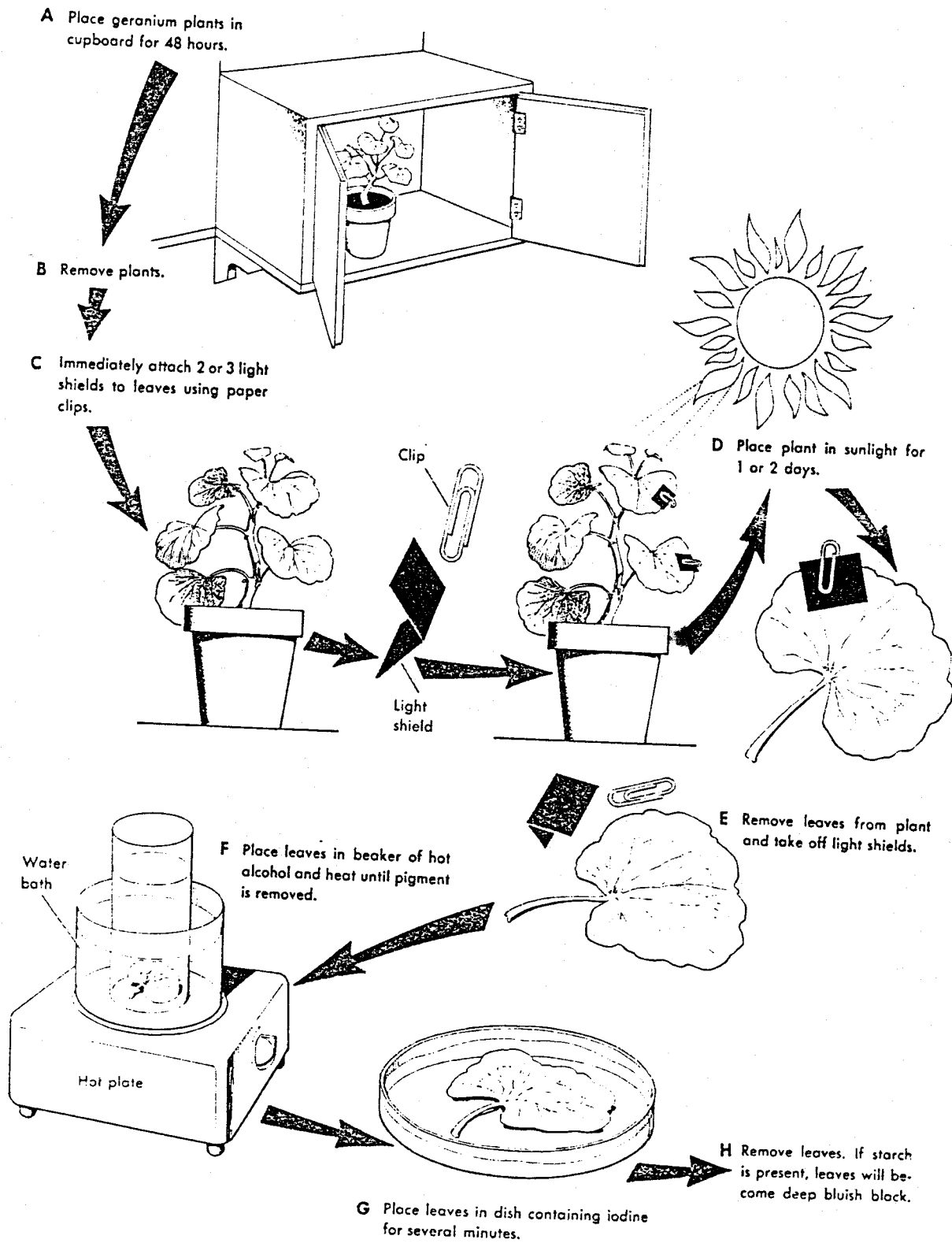
Gambar: Studi Beberapa Organisma Satu Sel



Gambar: Prosedur Memeriksa Sel Epidermis Manusia

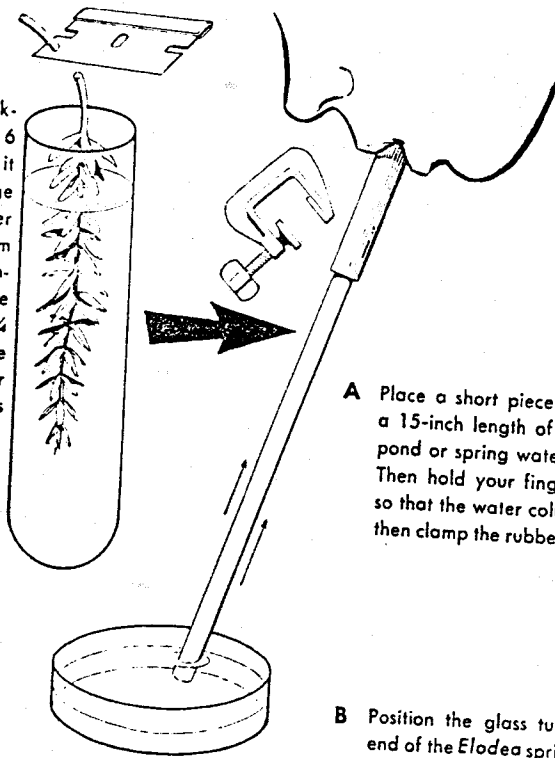


Gambar: Cahaya untuk Fotosintesis



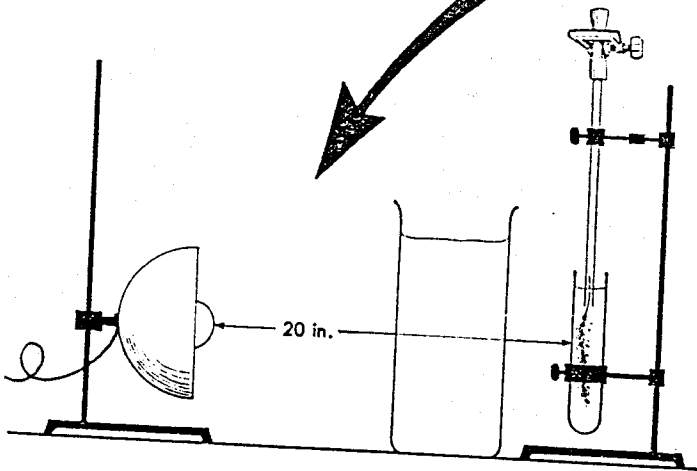
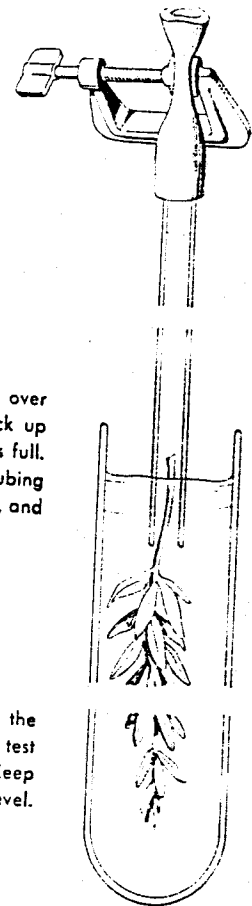
Gambar: Pengaruh Intensitas Sinar pada Fotosintesis

Select a "healthy looking" sprig of *Elodea* 6 inches in length. Place it upside down in a large test tube of spring water containing 0.25% sodium bicarbonate. Before completely submerging the *Elodea* sprig, cut off $\frac{1}{4}$ inch from the base of the stem with a sharp razor blade. Remove any leaves near the cut end.



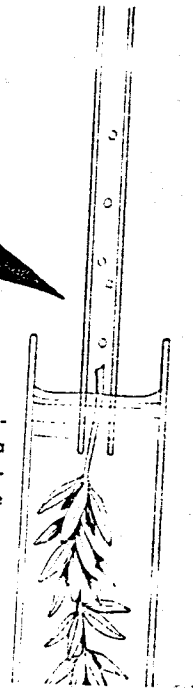
A Place a short piece of rubber tubing over a 15-inch length of glass tubing. Suck up pond or spring water until the tube is full. Then hold your finger over rubber tubing so that the water column does not fall, and then clamp the rubber tubing.

B Position the glass tubing gently over the end of the *Elodea* sprig and then clamp test tube and glass tube to a ring stand. Keep *Elodea* and glass tube below water level.



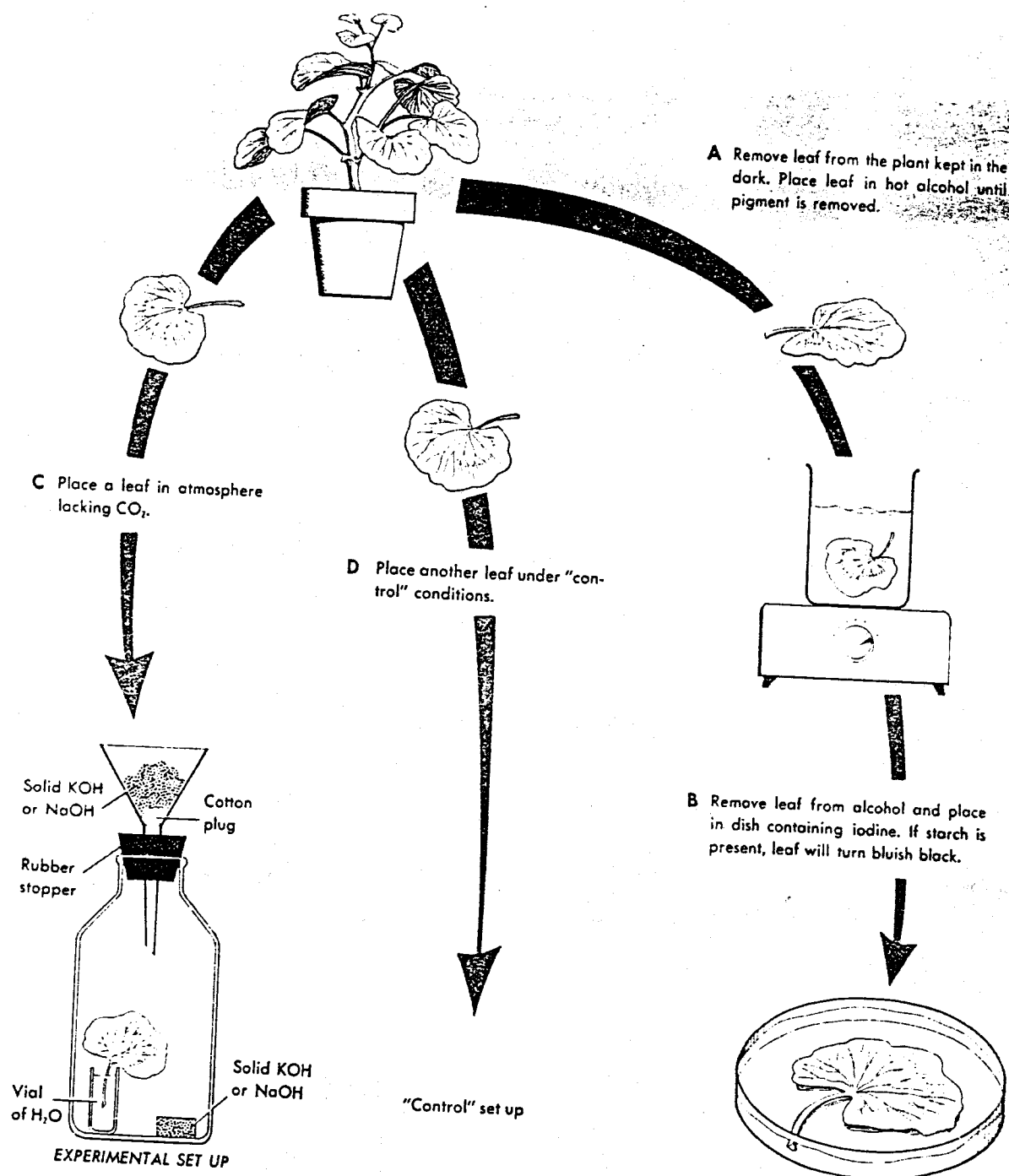
C Position a light 20 inches from the plant. Place a container of cool water between the light and the *Elodea*. (Why?) Turn the light on and allow to stand for 5 minutes before taking any readings. (Why?)

D Count the bubbles produced each minute for a 5 minute period. Calculate the average bubble count per minute.



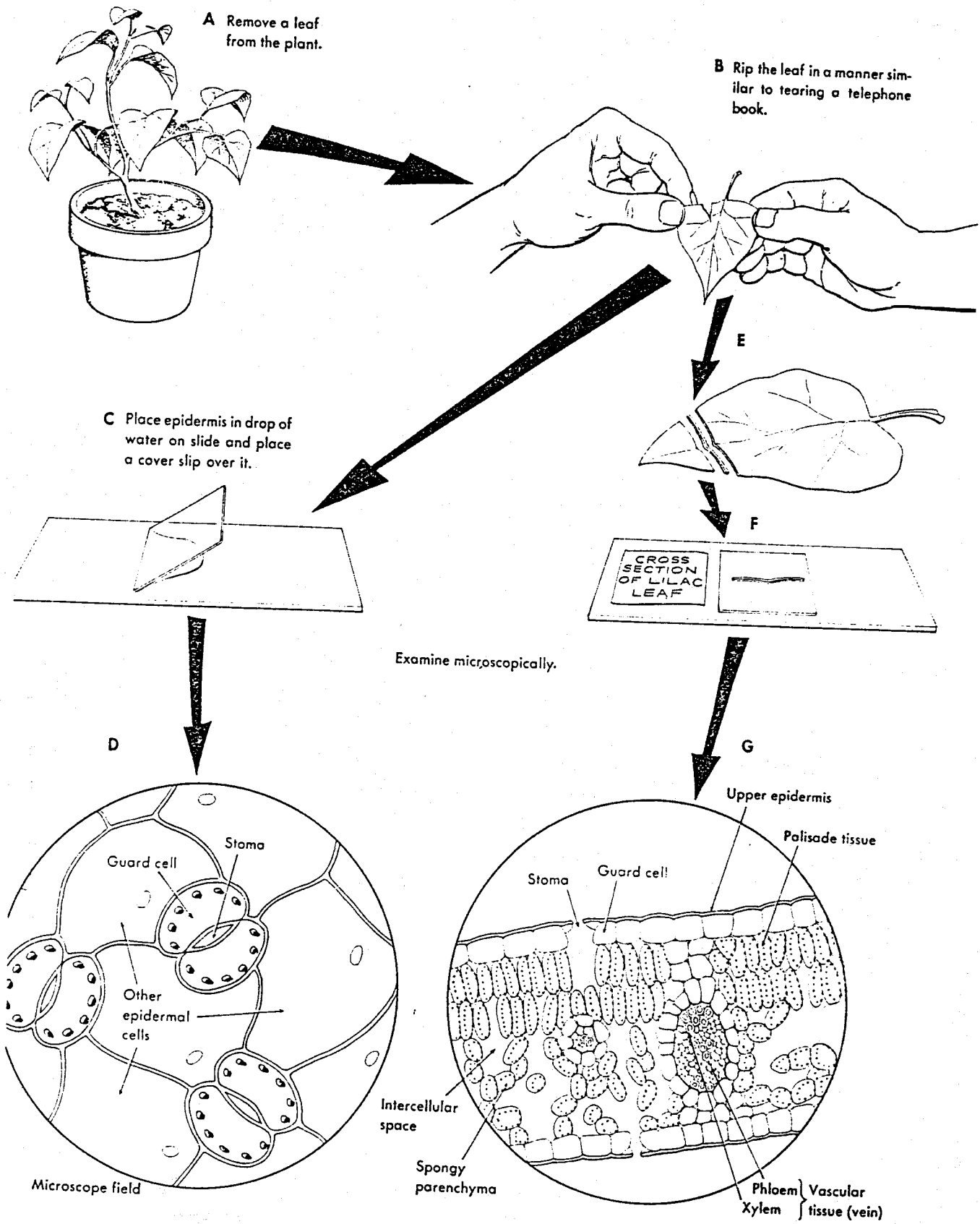
ADMINISTRATIVE
SERVICES

Gambar Gas CO₂ untuk Fotosintesis

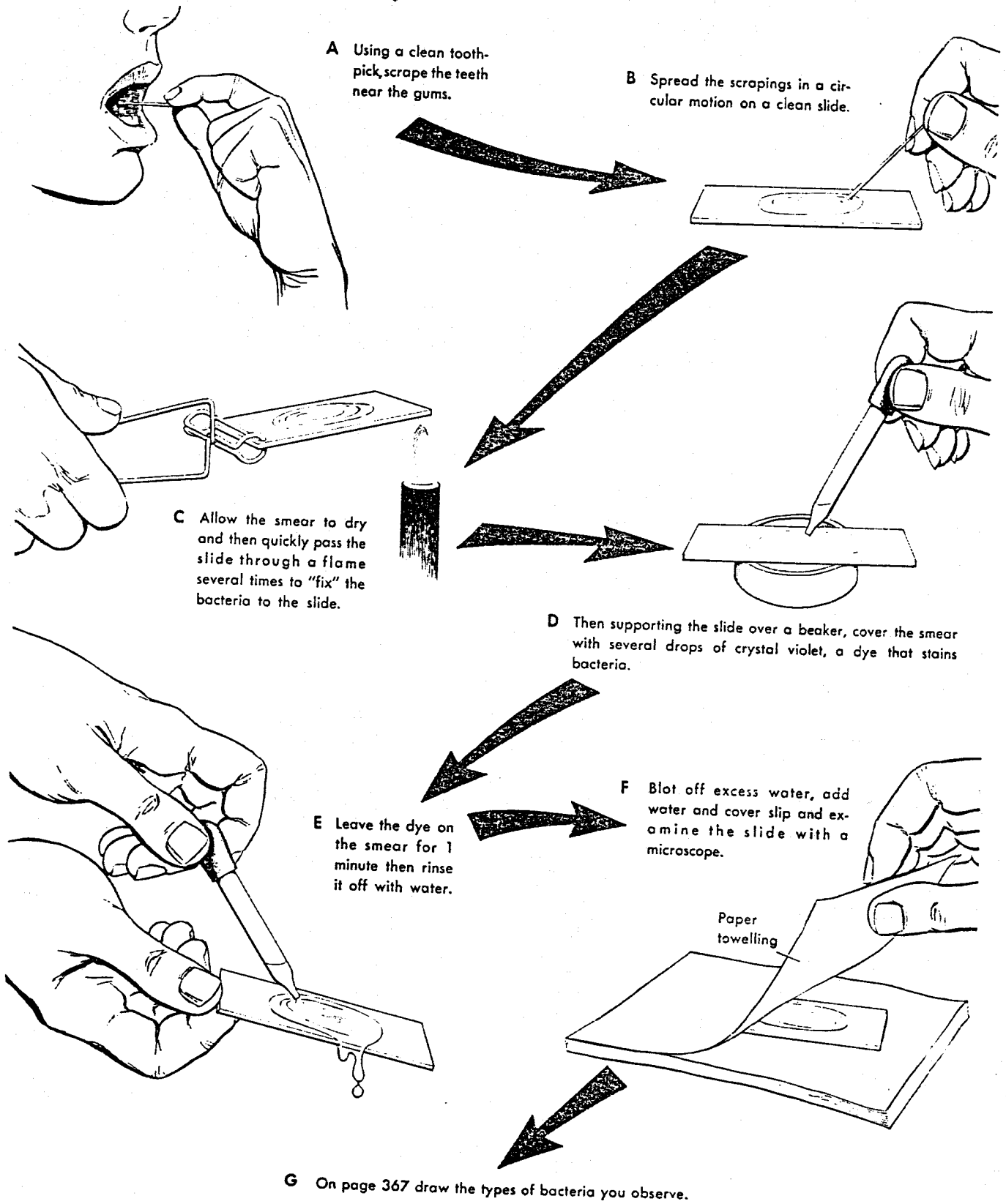


Place "experimental" and "control" set ups under bright lights for 24 hours. Then test for starch as shown in steps A and B.

Gambar: Anatomi Daun

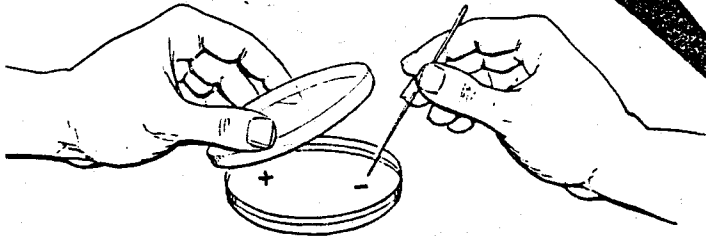


Gambar: Pewarnaan Bakteri

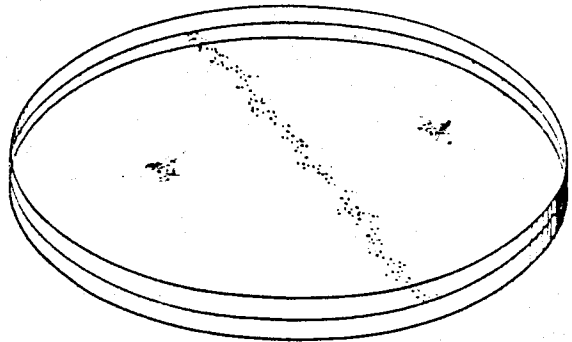


Gambar: Reproduksi Seksual Jamur Hitam pada Roti

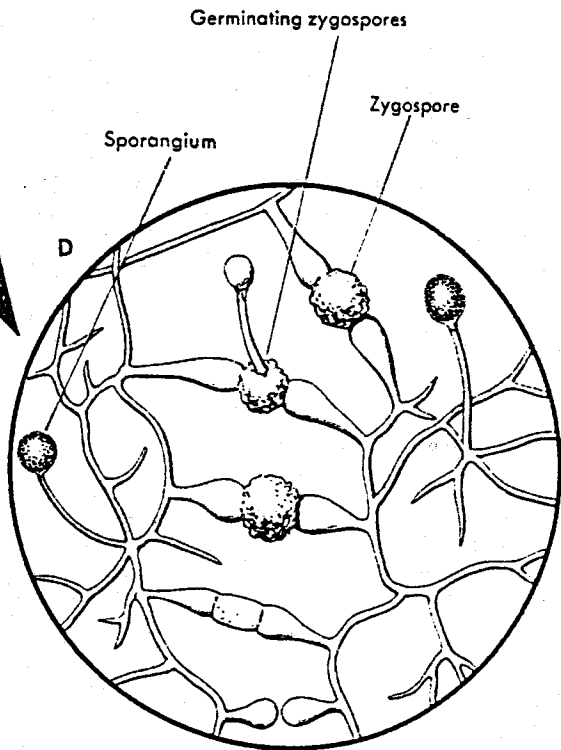
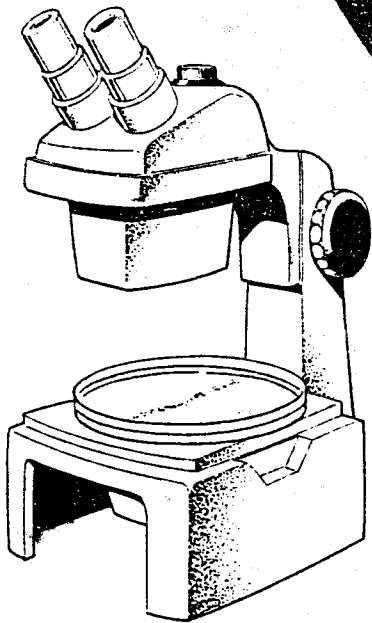
A Your instructor has earlier inoculated (+) and (-) strains of bread mold onto the agar of a Petri dish.



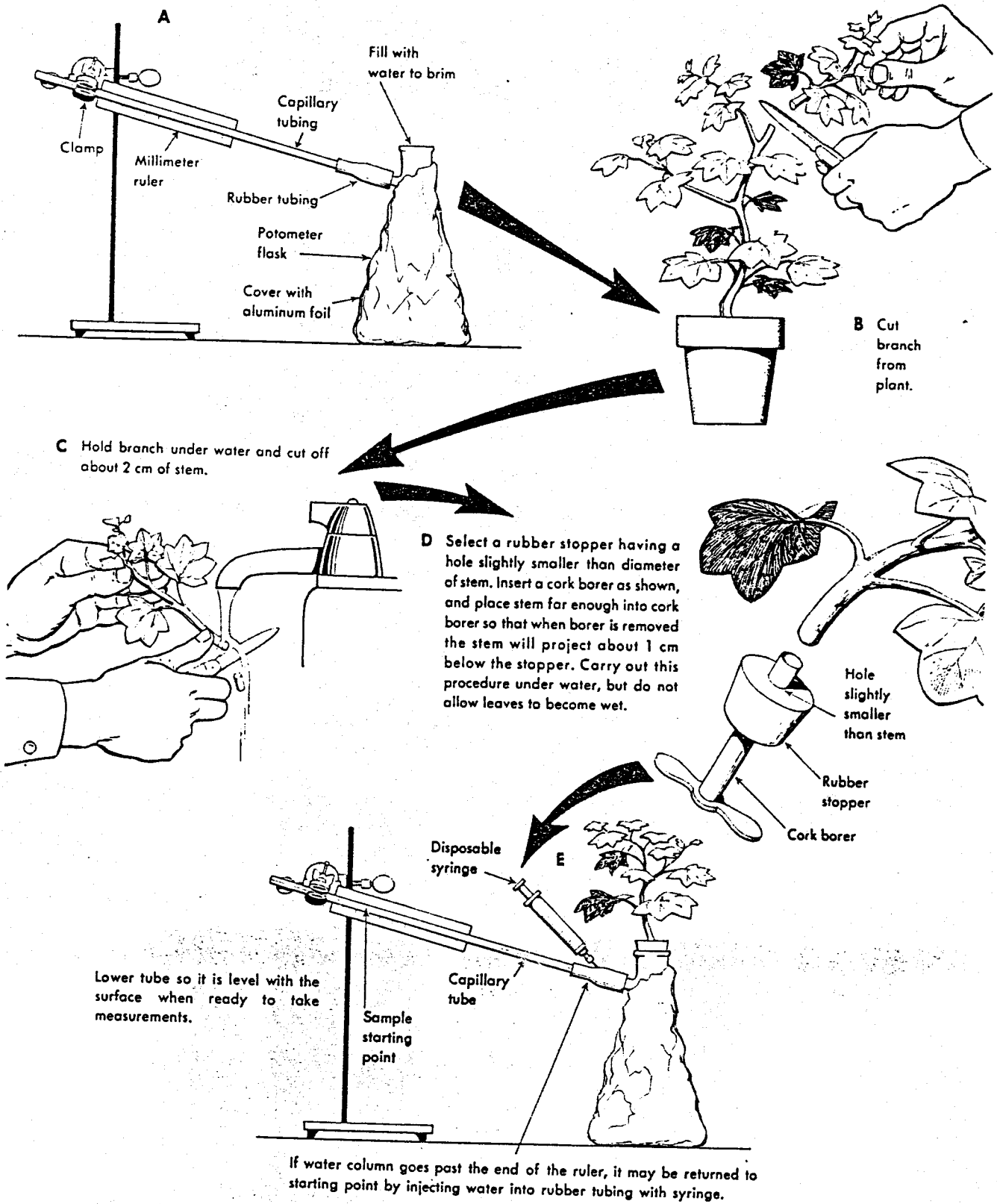
B When the two strains meet, gametes form and fuse, producing a line of dark zygospores.

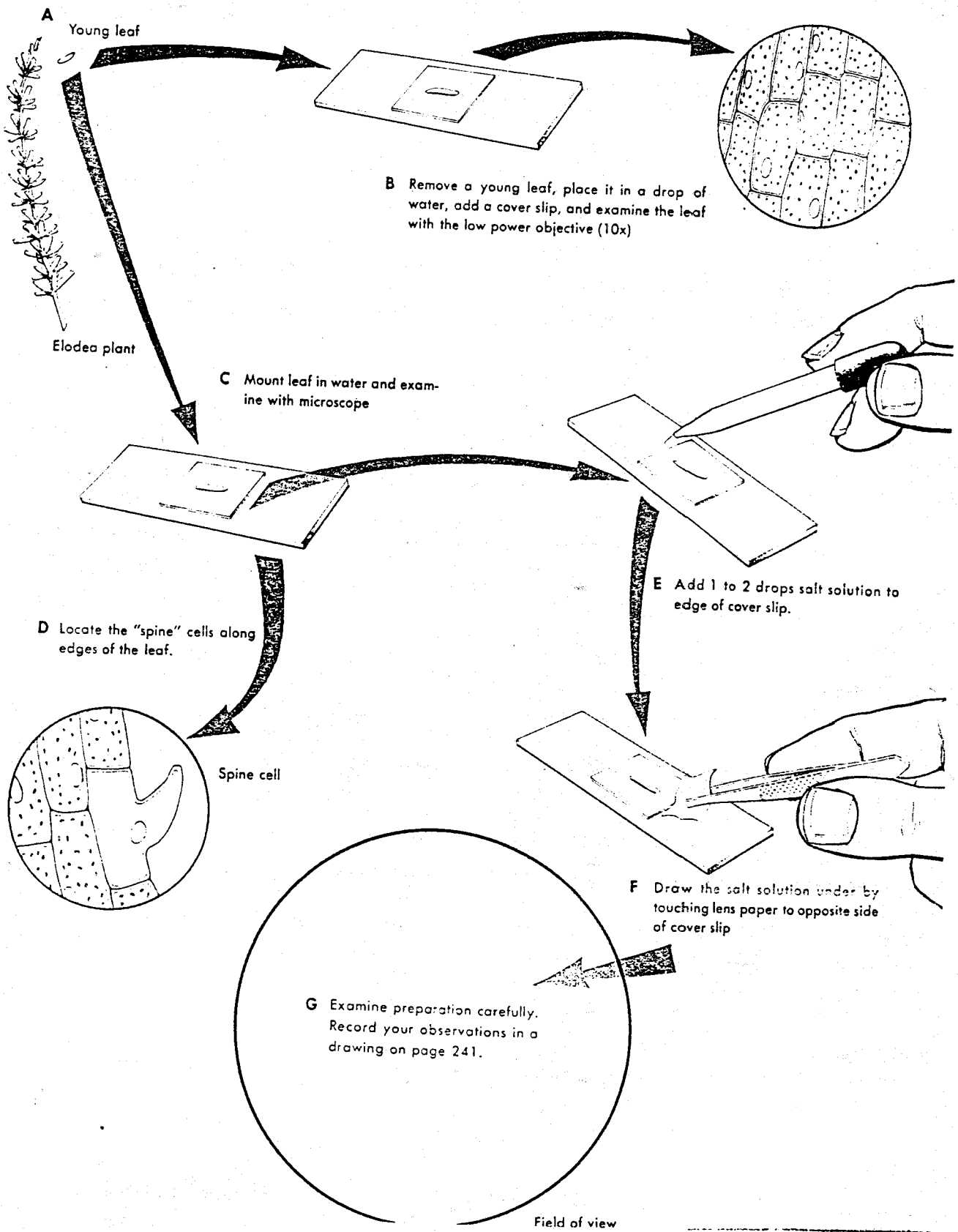


C Examine the unexposed dish with your dissecting microscope and locate the zygospores.



Gambar: Melihat Kecepatan Transpirasi



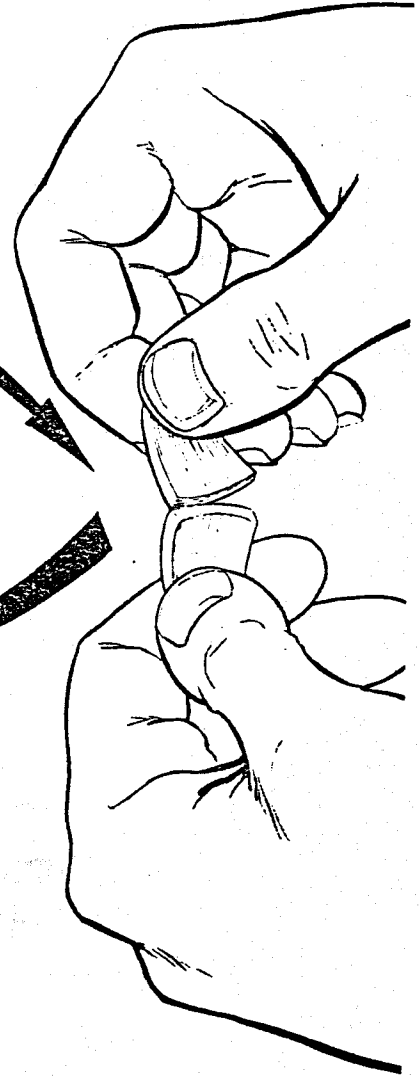
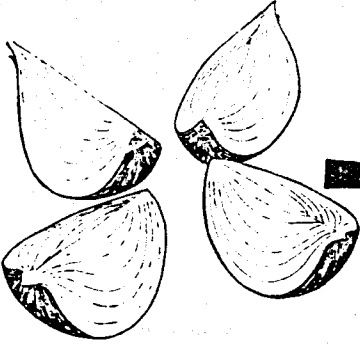


Gambar: Sel Tumbuhan Umbi Bawang

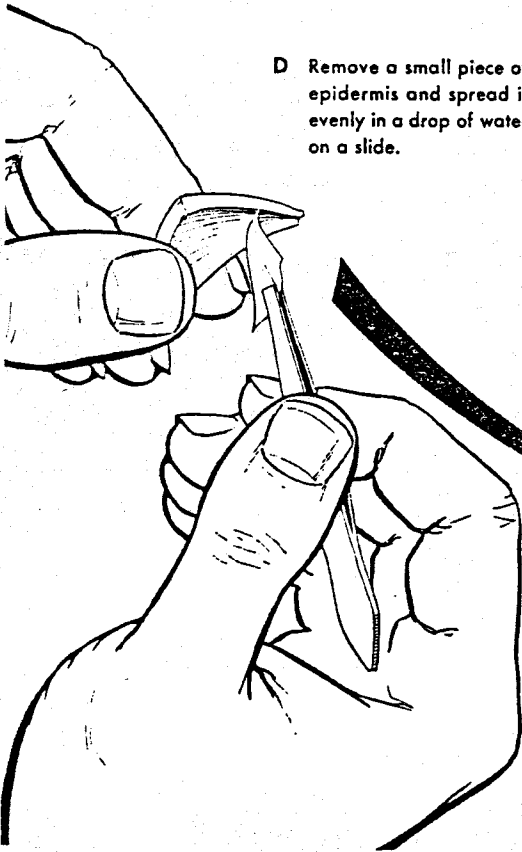
A Cut an onion bulb into quarters.

B Remove one of the fleshy "scale" leaves.

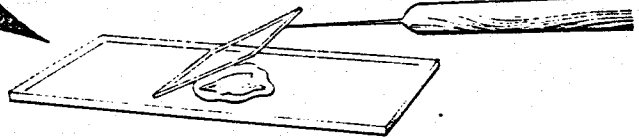
C Snapping the "leaf" backwards usually provides a ragged piece of epidermis.



D Remove a small piece of epidermis and spread it evenly in a drop of water on a slide.



(Pencil or Needle)



E Gently lower a cover slip to prevent trapping air bubbles. Examine with your microscope. Add more water to the edge of the cover slip with an eye dropper if the slide begins to dry.