

Praktik Layanan Kegiatan Praktikum Biologi

Anna Rakhmawati

Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY

Email: anna_rakhmawati@uny.ac.id

Praktikum merupakan salah satu kegiatan yang dilakukan di berbagai jenjang pendidikan. Hubungan antara teori dan praktek seyogyanya bersifat berlapis-lapis dan terintegratif, di mana teori dan praktek secara bergantian dan bertahap saling mengisi, saling mencari dasar, dan saling mengkaji. Sehubungan kaitan antara teori dan praktek inilah laboratorium/workshop dan fasilitas lain dalam proses belajar-mengajar patut mendapat perhatian.

Pelaksanaan praktikum Biologi dapat dilaksanakan di ruang laboratorium maupun lingkungan sekitar. Pelaksanaan praktikum akan berjalan dengan lancar apabila didukung dengan persiapan yang matang. Sebelum dilakukan praktikum, terlebih dahulu disusun jadwal praktikum berkaitan dengan pembagian waktu dan tempat (lampiran 1) serta susunan laboran yang membantu keterlaksanaan kegiatan (lampiran 2). Pendukung lain yang diperlukan yaitu ketersediaan petunjuk praktikum. Penggandaan jumlah petunjuk praktikum disesuaikan dengan jumlah siswa/mahasiswa yang mengambil mata praktikum tersebut. Lampiran 3 menunjukkan daftar pemesanan petunjuk praktikum. Lampiran 4 dan 5 adalah tanda terima penerimaan petunjuk praktikum. Distribusi akan lebih mudah apabila yang mengambil petunjuk praktikum adalah ketua kelas/koordinator kelas yang bertanggung jawab membagikan ke seluruh siswa/mahasiswa sekelasnya.

Pelaksanaan praktikum Biologi pada umumnya dilaksanakan secara berkelompok. Praktikum memerlukan alat dan bahan kimia yang dapat dipinjam untuk masing-masing kelompok. Lampiran 6 memperlihatkan contoh form peminjaman alat praktikum.

Kegiatan praktikum Biologi sangat bervariasi dari bidang botani, zoologi, mikrobiologi, maupun lingkungan. Dalam makalah ini akan dibahas lebih lanjut mengenai salah satu praktik layanan kegiatan praktikum Biologi yaitu Mikrobiologi.

Contoh Petunjuk Praktikum Mikrobiologi

LATIHAN I TEKNIK-TEKNIK DASAR DALAM PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI

Tujuan :

- ◆ Mengenalkan mahasiswa pada beberapa prosedur teknik aseptik dan instrumen dasar di Laboratorium Mikrobiologi
- ◆ Mengembangkan kemampuan dan ketrampilan mahasiswa dalam bekerja di Laboratorium Mikrobiologi

1. TEKNIK ASEPTIK

Teknik aseptik merupakan metode pertama yang dipelajari oleh orang-orang yang berkecimpung dalam bidang Mikrobiologi. Pada prinsipnya teknik aseptik adalah usaha menghindarkan setiap kontak antara kultur murni ("pure culture"), medium steril dan semua wadah steril serta permukaan meja kerja, dengan mikroorganisme kontaminan/ kompetitor (mikroorganisme yang tidak diinginkan). Teknik aseptik dibutuhkan misalnya, pada saat melakukan kultivasi mikroorganisme dan pemindahan (transfer) kultur murni dari satu *vessel* (mis. tabung reaksi) ke tabung reaksi yang lain. Teknik aseptik harus ditegakkan untuk mencegah terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme "kompetitor" pada kultur mikroba (murni) yang digunakan dalam suatu eksperimen serta pada media dan peralatan yang sudah steril. Ancaman kontaminasi mikroorganisme "kompetitor" selalu ada (mungkin terjadi) karena mikroorganisme terdapat dimana-mana dan karena ukurannya kecil maka mudah tersebar melalui udara dan mudah ditemukan pada berbagai permukaan peralatan laboratorium dan media pertumbuhan mikroorganisme.

Oleh karena itu penguasaan akan teknik aseptik sangat diperlukan untuk mendukung keberhasilan eksperimen (praktikum) di Laboratorium Mikrobiologi. Prinsip-prinsip dasar teknik aseptik yang harus ditegakkan adalah: (1) Media pertumbuhan dalam wadah (mis. erlenmeyer atau tabung reaksi) harus disterilisasi segera setelah dibuat

(2) Wadah (mis. petridish) yang akan digunakan untuk kultivasi mikroorganisme sebaiknya dibungkus dan kemudian disterilkan (3) Semua instrumen (mis. jarum ose ataupun tip pipet) dan berbagai larutan serta aquadest yang akan menyentuh sisi sebelah dalam petridish dan tabung reaksi yang sudah disterilkan, medium steril dan kultur mikroorganisme, pertama-tama harus disterilkan terlebih dahulu (4) Area kerja atau meja kerja harus disterilkan dahulu sebelum dipakai dan selalu dijaga sterilitasnya sepanjang pemakaiannya (misalnya, tidak meletakkan ose dan tip pipet yang telah digunakan untuk kultivasi maupun transfer mikroorganisme, di atas meja kerja. Jarum ose harus disterilkan kembali (dengan dibakar pada nyala api Bunsen) sebelum diletakkan di tempatnya dan tip pipet bekas pakai harus diletakkan dalam larutan disinfektan/ alkohol) (5) Mulut tabung reaksi harus selalu dipanaskan dahulu sebelum maupun sesudah transfer ataupun kultivasi mikroorganisme. Tutup/sumbat tabung kultur tidak boleh diletakkan di atas meja kerja untuk mencegah kontaminasi ulang-alik antara tabung reaksi kultur dan meja kerja (6) Biasakan untuk memisahkan (mengkategorikan) segala macam peralatan dan medium antara yang steril dan terkontaminasi agar pekerjaan berjalan lancar (7) Transfer kultur dan kultivasi mikroorganisme harus dilakukan di dekat nyala api Bunsen pada meja kerja yang sudah disterilkan atau dalam *laminar-air flow cabinet*.

STERILISASI

Sterilisasi dalam Mikrobiologi merupakan proses destruksi atau pembersihan terhadap semua bentuk kehidupan mikroorganisme (eukariot, prokariot dan virus) pada medium atau bahan/ alat. Dengan demikian sterilisasi merupakan pilar penyangga teknik aseptik untuk kesuksesan kerja di laboratorium mikrobiologi. Dalam praktek, sterilisasi alat-alat atau medium dapat dikerjakan secara mekanis (mis. penyaringan), secara kimiawi (mis. desinfektan) dan secara fisikawi (mis. pemanasan, sinar uv).

2. TEKNIK ISOLASI MIKROORGANISME

Di alam, populasi mikroorganisme tidak terpisah (segregasi) berdasarkan spesies akan tetapi berada (*exist*) dalam sebuah populasi campuran (*mixed populations*). Di laboratorium, populasi campuran ini dapat dipisahkan menjadi biakan murni (*pure culture*). Biakan murni ini hanya terdiri dari satu strain mikroba atau hasil

perbanyak dari satu sel mikroba, sehingga dapat digunakan untuk berbagai macam studi misalnya, studi sifat biakan, morfologi koloni, aktivitas biokimiawi dan studi klasifikasi filogenetik. Terdapat 3 metode/ prosedur isolasi kultur mikroorganisme campuran sehingga diperoleh koloni-koloni terpisah (*discrete colonies*) yang selanjutnya dapat diisolasi sebagai biakan murni. Ke 3 metode tersebut adalah: metode *streak plate* (metode goresan); metode *pour plate* (metode tuang) dan metode *spread plate/ surface plate* (metode tabur & perataan dengan *drigalsky*). Prinsip dasar ke 3 metode tersebut adalah mereduksi jumlah sel bakteri dalam *inokulum* (sampel).

a. Metode *streak plate*

Merupakan metode isolasi qualitative yang hemat waktu dan bahan/ alat. Pada prinsipnya metode ini merupakan teknik pengenceran dengan goresan dari satu ose biakan campuran yang diinokulasikan pada permukaan agar plate. Berbagai model penggoresan dapat dilakukan untuk mendapatkan koloni-koloni yang terpisah: Koloni-koloni yang saling terpisah dari yang lain hanya tumbuh pada permukaan medium agar plate.

b. Metode *pour plate*

Metode isolasi ini memerlukan suatu serial pengenceran dari kultur campuran dengan menggunakan jarum ose (*loop*): *the loop-dilution procedure* (lampiran 2, hal.30). Koloni-koloni yang saling terpisah dari yang lain akan tumbuh pada seluruh medium agar plate dan tidak hanya tumbuh pada permukaan medium agar plate. Prosedur isolasi ini dapat pula digunakan untuk menghitung secara kuantitatif jumlah sel viable dari suatu kultur bakteri apabila inokulum dan serial pengenceran dibuat dengan volume terukur.

c. Metode *spread plate (surface plate)*

Metode isolasi ini menggunakan campuran mikroorganisme yang sudah diencerkan terlebih dahulu (lampiran 2, hal.30- media agar diganti dengan aquadest steril), kemudian sebanyak satu ose penuh (*loopful*) inokulum yang sudah diencerkan, diinokulasikan secara aseptik di bagian tengah medium agar dan diratakan dengan menggunakan batang *drigalsky* steril. Dengan metode ini koloni-koloni akan tumbuh hanya di permukaan medium *agar plate* saja. Prosedur isolasi ini dapat pula digunakan

untuk menghitung secara kuantitatif jumlah sel viable dari suatu kultur bakteri apabila inokulum dan serial pengenceran dibuat dengan volume terukur.

3. TEKNIK PENYIMPANAN KULTUR MURNI

Teknik yang akan dibahas ini merupakan prosedur penyimpanan *pure culture* (*stock culture*) yang diisolasi dari *discrete colonies*, dan diperoleh melalui ke 3 metode isolasi mikroorganisme yaitu *streak plate*, *pour plate* atau *spread plate*. Prinsip penyediaan kultur murni (*pure culture*) adalah mengambil koloni-koloni yang saling terpisah dari yang lain, dengan ose steril secara aseptis, dan memindahkannya ke medium agar miring (*agar slope/ agar slant*), sehingga masing-masing kultur mikroba pada agar miring ini mewakili satu strain bakteri (*single strain of bacteria*). Koloni-koloni yang terpisah merupakan keturunan dari satu sel tunggal (*single cell*). Namun demikian tidak setiap koloni berasal dari *single cell*, sebagai contoh adalah bakteri *Streptococcus* yang beberapa selnya saling berlekatan membentuk rantai. Oleh karena itu koloni-koloni *Streptococcus* berkembang dari beberapa sel yang berlekatan ini, jadi bukan dari *single cell* tetapi dari *cell cluster*.

Untuk kepentingan penelitian atau praktikum, kultur murni dapat disimpan sebagai *stock culture*. Khusus untuk kultur mikroorganisme yang berharga (*valuable*) dan telah dikarakterisasi fenotipik dan molekular maka dapat didepositkan di tempat pengkoleksi (penyimpan) kultur, misalnya: *American Type Culture Collection* (ATCC) di Rockville, Maryland-USA. Persyaratan yang harus dipenuhi dalam teknik penyimpanan kultur murni (*culture preservation*) adalah: (1) tidak menurunkan daya hidup kultur mikroorganisme (2) mampu mencegah terjadinya perubahan-perubahan genetik dan fisiologis. Ada beberapa teknik penyimpanan kultur murni, yaitu: (a) pemindahan kultur ke medium baru secara periodik (b) penyimpanan pada suhu rendah dalam refrigerator atau dibekukan (c) pengeringan, misalnya: lyofilisasi (*freeze-drying*). Metode yang memenuhi kedua persyaratan teknik penyimpanan kultur murni adalah lyofilisasi, yang digunakan oleh berbagai tempat penyimpanan kultur di dunia. Metode penyimpanan kultur yang paling sederhana adalah dengan pemindahan kultur ke medium baru secara periodik. Tetapi metode ini beresiko tinggi (*high risk*) karena pemindahan kultur yang berulang kali akan mengakibatkan terjadinya perubahan genetik dan fisiologis kultur mikroorganisme. Disamping itu metode ini seringkali

memakan waktu (*time consuming*) terutama bila sejumlah besar kultur harus dipindahkan. Kelemahan lain metode ini adalah waktu simpannya relatif pendek artinya memerlukan pemindahan setiap beberapa minggu. Oleh karena itu metode ini hanya disarankan untuk kegiatan praktikum mahasiswa. Apabila menginginkan waktu simpan yang lebih panjang, misalnya: 3-5 bulan, maka disarankan untuk menyimpan kultur dalam refrigerator pada temperatur 0-5°C. Pada kondisi ini metabolisme bakteri direduksi secara menyolok (significant).

KEGIATAN LABORATORIUM:

Kegiatan laboratorium pada Latihan I ini dimaksudkan agar mahasiswa dapat menjalankan dan melakukan teknik-teknik dasar dalam praktikum mikrobiologi.

Kegiatan 1: Pengenalan alat dan bahan/ media.

- *Petri dish *Jarum platina, ose (loop)
- *Drigalsky *Beaker glass
- *Mikropipet dan tip pipet
- *Autoclave
- *Erlenmeyer *Aquadest 9 ml/ 99 ml
- *Agar plate *Agar slope/ slant/ miring
- *Agar deep/ tegak
- *Berbagai media "ready made" : Oxoid, Difco, dll.
- *Reagen pengecatan : Gram, sederhana, dll.

Prosedur kerja kegiatan 1 :

- a. Petri dish: dicuci bersih, dikeringkan, dibungkus dengan kertas payung dan disterilisasi dengan autoclave
- b. Tip pipet : dicuci bersih, dikeringkan, dibungkus dengan cara yang memudahkan untuk pengambilannya dan di-sterilisasi dengan autoclave
- c. Jarum platina/ ose dan drigalsky: di-sterilisasi dengan dibakar pada nyala api Bunsen pada waktu akan dipergunakan
- d. Aquadest 9 ml/ 99 ml : disiapkan dalam tabung reaksi/ erlenmeyer, ditutup dan di-sterilisasi autoclave
- e. Cara pembuatan dan penyediaan media steril:

Disampaikan dalam Pelatihan Pengelolaan Laboratorium IPA

- petunjuk cara pembuatan media dapat dibaca pada label yang ditempel di bagian luar wadah media.
- penyiapan & penyediaan berbagai bentuk media agar dan cair:
 - ✓ media agar : setelah media agar dibuat sesuai dengan petunjuk, selanjutnya untuk mendapatkan tabung agar miring dan tabung agar tegak maka medium yang telah dibuat tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi bersih sebanyak 5 ml dan 7 ml, secara berurutan; sedangkan untuk membuat agar plate maka media agar dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Semua wadah yang telah diisi media ini, ditutup dan kemudian di-sterilisasi autoclave. Setelah selesai sterilisasi, tabung agar miring harus segera dimiringkan dan tabung agar tegak harus diletakkan pada rak tabung dalam posisi tegak, sedangkan untuk mendapatkan agar plate, maka medium dalam erlenmeyer dibiarkan mendingin sampai temperatur $\pm 45^{\circ}\text{C}$ dan kemudian secara aseptik dituangkan kedalam Petri dish steril ± 15 ml.
 - ✓ media cair : setelah media cair dibuat sesuai dengan petunjuk, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi atau erlenmeyer yang bersih $\pm 1/3$ volume tabung reaksi/erlenmeyer, ditutup misalnya dengan kapas dan di-sterilisasi autoclave

Daftar pustaka

- Anna Rakhmawati, Bernadetta Octavia, Siti Umniyatie. 2011. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. Jurdik Biologi FMIPA UNY
- Anonim, 2005. *Media of microorganism*. [http://www. biology.clc.uc.edu](http://www.biology.clc.uc.edu) 3 Maret 2005, 15.00 WIB
- Atlas, R.M., A.E. Brown, K.W.Debra, and L.Miller. 1984. *Experimental Microbiology: fundamental and applications*. Macmillan publishing company, New York
- Benson, H.J. 1998. *Microbiological applications: laboratory manual in general Microbiology*, 7th edition, WCB McGraw-Hill, Boston USA
- Cappucino, J.E and N. Sherman. 1987. *Microbiology, a Laboratory Manual*. The Benjamin Cummings Publishing company, Inc, California, USA
- Claus, G.W. 1989. *Understanding microbes, a laboratory textbook for Microbiology*, W.H. Freeman and Company, USA
- Hudson, B.K. and L.Sherwood. 1997. *Explorations in Microbiology, a discovery-based approach*, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA

Lampiran 5

TANDA TERIMA BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM
SEMESTER GASAL TA. 2012/2013

Mata Praktikum :

Kelas :

Program Studi :

Jurusan :

No	Nama Siswa / NIS	Tanda Tangan	
1		1	
2			2
3		3	
4			4
5		5	
6			6
7		7	
8			8
9		9	
10			10
11		11	
12			12
13		13	
14			14
15		15	
16			16
17		17	
18			18
19		19	
20			20
21		21	
22			22
23		23	
24			24
25		25	
26			26
27		27	
28			28
29		29	
30			30
31		31	
32			32
33		33	
34			34
35		35	
36			36
37		37	
38			38
39		39	
40			40

Mengetahui
Ketua Jurusan

Yogyakarta,
Koordinator Laboratorium

Lampiran 6

SURAT PEMINJAMAN ALAT PRAKTIKUM

Nama :
NIS :
Jurusan :
Program Studi :

Meminjam alat untuk praktikum :

No.	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah

Yogyakarta,

Mengetahui
Laboran

Peminjam

.....
NIP.

.....
NIS