



**BUKU PEDOMAN PRAKTIKUM  
BAKTERIOLOGI II**

**DISUSUN OLEH :**

**MAULIN INGGRAINI, M.Si  
PANGERAN ANDAREAS, M.Si  
REZA ANINDITA, M.Si**

**PROGRAM STUDI DIII ANALIS KESEHATAN  
STIKes MITRA KELUARGA  
BEKASI  
2015**

## **KATA PENGANTAR**

Segala Puja dan Puji syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas segala hikmah dan karuniaNya yang telah diberikan kepada tim penyusun buku petunjuk praktikum Bakteriologi II. Keahlian dan keterampilan kerja di laboratorium sangat membantu dalam memahami teori yang telah dioeroleh di kuliah, sehingga dapat tercipta korelasi yang saling membangun antara teori dengan kenyataan.

Buku petunjuk praktikum ini disusun secara rinci dan sistematis, dilengkapi dengan gambar sehingga memudahkan praktikan memahami dan mempersiapkan diri sebelum melakukan kegiatan praktikum. Harapan kami, buku ini dapat bermanfaat bagi praktikan Bakteriologi II serta bagi mahasiswa yang memerlukannya. Segala kritik dan saran yang bersifat membangun tentang isi buku ini sangat dihargai demi perbaikan kualitas lebih lanjut.

Jakarta, November 2015

Tim Penyusun

## TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Praktikan harus telah mengenakan jas lab dan sepatu saat memasuki laboratorium dan bekerja dengan peralatan di laboratorium untuk menghindari kontaminasi.
2. Dilarang keras makan, merokok dan minum di laboratorium.
3. Praktikan berambut panjang harus mengikat rambutnya sedemikian rupa sehingga tidak mengganggu kerja dan menghindari dari hal-hal yang tidak diinginkan.
4. Sebelum dan sesudah bekerja, meja praktikum dibersihkan dengan desinfektan.
5. Dilarang membuang zat sisa atau habis pakai dan pewarna sisa disembarang tempat. Bahan tersebut harus dibuang di tempat yang telah disediakan oleh asisten.
6. Laporkan segera jika terjadi kecelakaan seperti kebakaran dan ketumpahan kepada asisten/dosen.
7. Sebelum meninggalkan laboratorium disarankan untuk mencuci tangan.
8. Praktikan dilarang berbicara yang tidak perlu dan membuat gaduh.
9. Praktikan yang datang terlambat lebih dari 10 menit mengganti Quiz di akhir acara.
10. Praktikan yang datang terlambat lebih dari 20 menit tidak diperkenankan mengikuti praktikum, dan akan mengikuti praktikum susulan sesuai jadwal yang disepakati antara dosen dan mahasiswa terkait.
11. Kuis dapat berupa *pretest* atau *posttest* untuk mengetahui sejauh mana kompetensi yang dicapai.
12. Praktikan yang tidak mengikuti **asistensi** tanpa keterangan tidak mendapatkan nilai *pretest*, tapi jika ada izin tertulis maka dapat mengikuti *pretest* susulan.
13. Laporan sementara harus dibawa saat masuk praktikum sebagai syarat masuk praktikum.
14. Pelanggaran dari ketentuan di atas dapat mengakibatkan sanksi akademik (skrosing praktikum, tidak diperkenankan mengikuti ujian, dsb).
15. Aturan-aturan / tata tertib yang belum tercantum akan diputuskan kemudian.

## ACARAI

### PENGENDALIAN BAKTERI SECARA FISIK

#### I. TUJUAN

Mahasiswa mampu mengetahui pengaruh suhu, sinar UV, salinitas dan pH terhadap pertumbuhan bakteri.

#### II. DASAR TEORI

Pertumbuhan didefinisikan sebagai peningkatan seluruh unsur pokok kimia sel. Pertumbuhan merupakan proses bertambahnya tinggi, volume, ukuran, dan bersifat kuantitatif atau dapat dihitung. Substansi esensial harus mencukupi dan kondisi lingkungan harus sesuai agar tercipta pertumbuhan bakteri yang optimum.

Setiap bakteri memiliki respon yang berbeda terhadap kondisi lingkungan. Pengaruh kondisi lingkungan dapat diketahui dengan melihat tingkat pertumbuhan koloni bakteri pada medium yang telah diinkubasi dengan perlakuan kondisi lingkungan yang berbeda – beda. Beberapa spesies bakteri dapat hidup pada berbagai relung ekologi yang ekstrim, seperti temperatur, derajat keasaman, salinitas dan sinar UV. Kemampuan bakteri untuk mampu bertahan di bawah keadaan lingkungan yang ekstrim merupakan perlindungan dari adaptasi dan refleks kapasitasnya dalam keberhasilan merespon suatu stimulus yang dianggap asing atau tidak pernah ditemui sebelumnya.

#### III. METODE KERJA

##### 3.1. Alat dan Bahan

###### a. Alat

- |  |                                |
|--|--------------------------------|
| - Autoklaf                               | - <i>Show case</i>             |
| - Inkubator                              | - Tabung reaksi                |
| - <i>Hot Plate</i>                       | - Cawan petri                  |
| - <i>Colony counter</i>                  | - <i>Drugalsky</i>             |
| - <i>Biological Safety Cabinet (BSC)</i> | - Pipet ukur dan <i>filler</i> |
| - Neraca analitik                        | - <i>Erlenmeyer</i>            |

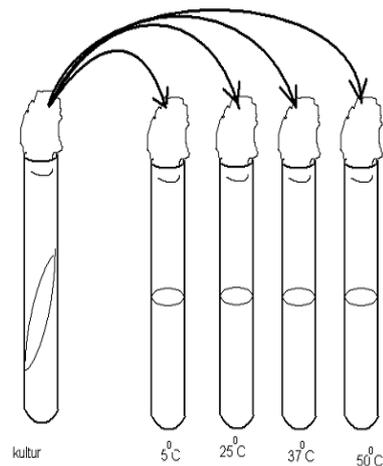
### b. Bahan

- Isolat *Eschericia coli*
- Media NA
- Akuades
- KOH
- Isolat *Bacillus Subtilis*
- Media NB
- HCl
- NaCl

## 3.2. Cara Kerja

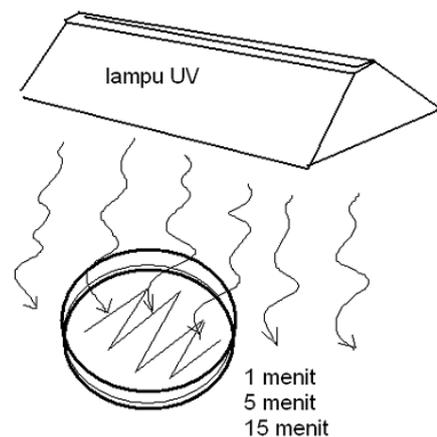
### a. Pengaruh suhu

- 1) Bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis* diinokulasikan pada media NB
- 2) Bakteri tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 5 °C, 25 °C, 37°C dan 50°C selama 2x24 jam dan beri label
- 3) Bandingkan derajat kekeruhannya



### b. Pengaruh sinar UV

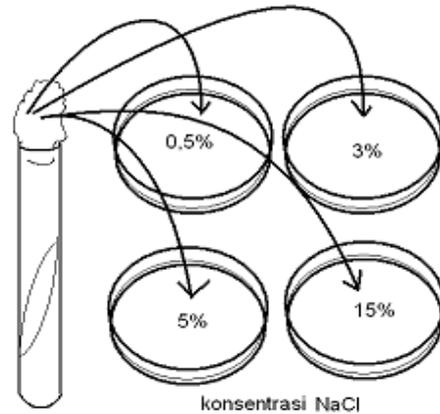
- 1) Inokulasikan *E. coli* dan *B.subtilis* masing - masing pada 4 cawan media NA secara *spread plate*
- 2) Paparkan media NA yang sudah diinokulasikan bakteri tersebut pada sinar UV selama 1 menit, 5 menit, dan 15 menit dengan keadaan cawan terbuka dan lingkungan sekitar steril.
- 3) Jarak antara sinar UV dan cawan ± 12 inchi
- 4) 1 media NA tidak dipaparkan sinar UV, sebagai kontrol



- 5) Bakteri kemudian diinkubasi selama 2x24 jam, amati pertumbuhan koloninya

### c. Pengaruh salinitas

- 1) Inokulasikan *E.coli* dan *B.subtilis* pada media cawan NA yang mengandung NaCl 0,5%, 3%, 5% dan 15% secara *spread plate* dan beri label
- 2) Inokulasikan juga *E. coli* dan *B. subtilis* pada media

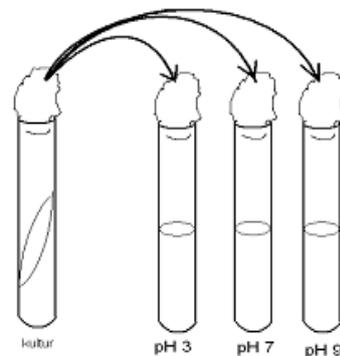


cawan NA yang tidak ditambah NaCl sebagai kontrol

- 3) Inkubasi selama 2x24 jam, amati pertumbuhannya

### d. Pengaruh pH

- 1) Inokulasikan *E. coli* dan *B.subtilis* pada media NB dengan pH masing-masing 3, 7, dan 9, beri label
- 2) Inkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37 °C
- 3) Amati derajat kekeruhannya



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

#### a. Gambar hasil pengamatan

#### b. Tabel pengamatan

No.	Perlakuan	Bakteri	
		<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>
1.	Suhu 5 °C		
2.	Suhu 25 °C		
3.	Suhu 37 °C		

4.	Suhu 50 °C		
5.	Kontrol sinar UV		
6.	Sinar UV 1 menit		
7.	Sinar UV 5 menit		
8.	Sinar UV 15 menit		
9.	Kontrol salinitas		
10.	NaCl 0,5%		
11.	NaCl 3%		
12.	NaCl 5%		
13.	NaCl 15%		
14.	pH 3		
15.	pH 7		
16.	pH 9		

#### 4.2 Pembahasan

(Penjelasan mengenai pengaruh suhu, sinar UV, salinitas dan pH terhadap pertumbuhan bakteri. Penjabaran mengenai suhu, sinar UV, salinitas dan pH yang optimum untuk pertumbuhan bakteri).

#### V. KESIMPULAN

(Hasil kesimpulan merupakan penjelasan akhir dari hasil dan mengacu pada tujuan)

#### DAFTAR REFERENSI

(Tidak diperkenankan sumber dari blog dan wikipedia)

**Disetujui oleh :**

Tanda Tangan Dosen	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

Catatan : Kelengkapan laporan sesuai dengan yang di praktikumkan.

**ACARA II**  
**PENGENDALIAN BAKTERI**  
**MENGGUNAKAN DESINFEKTAN DAN ANTISEPTIK**

**I. TUJUAN**

Mahasiswa mampu mengetahui efisiensi dan efektivitas pada berbagai desinfektan dan antiseptik

**II. DASAR TEORI**

Desinfektan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk mencegah terjadinya infeksi dengan membunuh jasad renik terutama pada benda mati. Desinfektan dapat digunakan untuk sanitasi di rumah, laboratorium dan rumah sakit. Antiseptik adalah senyawa kimia yang digunakan untuk menghambat atau membunuh mikroba pada jaringan hidup, seperti pada kulit.

Efisiensi merupakan ukuran tingkat penggunaan sumber daya dalam suatu proses, semakin sedikit sumber daya yang digunakan maka proses tersebut semakin efisien. Efektivitas merupakan ukuran tingkat pemenuhan hasil atau tujuan. Semakin tinggi pencapaian target atau tujuan, semakin efektif proses tersebut. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas desinfektan yang digunakan untuk membunuh jasad renik adalah ukuran dan komposisi populasi jasad renik, konsentrasi zat antimikroba, lama paparan, temperatur, dan lingkungan sekitar

**III. METODE KERJA**

**3.1. Alat dan Bahan**

**a. Alat**

- |                     |              |
|---------------------|--------------|
| - Sprayer           | - Jarum ose  |
| - Botol spiritus    | - Pipet ukur |
| - Cawan petri       | - Filler     |
| - Tabung reaksi     | - Erlenmeyer |
| - Rak tabung reaksi | - Korek api  |
| - Gelas kimia       | - Pinset     |
| - Autoklaf          | - Inkubator  |

- Neraca analitis
- *Hot plate*

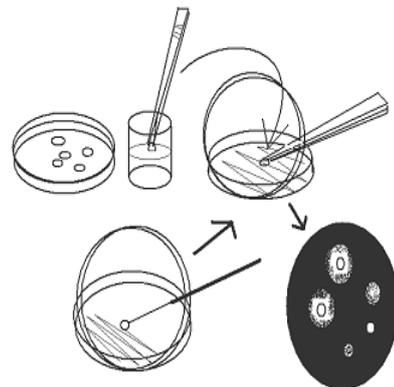
### b. Bahan

- Akuades
- Media NB
- Alkohol 70%
- Wipol
- Spiritus
- Lysol
- Kapas
- Betadin
- Kasa
- Detol
- Media NA
- *Hand sanitiser*
- Isolat *Bacillus subtilis*
- Kertas cakram
- Isolat *Escherichia coli*
- Fenol
- Sunlight
- Bayclin

## 3.2. Cara Kerja

### a. Pengujian desinfektan dan antiseptik dengan kertas cakram

- 1) Inokulasikan *E. coli* dan *B. subtilis* pada media NA cawan secara spread plate
- 2) Kertas cakram steril dicelupkan ke dalam larutan desinfektan (wipol, sunlight, bayclin, lysol) dan larutan antiseptik (betadin, detol,



*hand sanitiser*). Setelah diangkat, sisa tetesan larutan yang berlebih pada kertas cakram diulaskan pada dinding wadah karena dikhawatirkan larutan akan meluas di permukaan media jika larutan terlalu berlebihan

- 3) Kertas cakram diletakkan di permukaan media dengan pinset. Tekan dengan pinset agar kertas cakram benar – benar menempel pada media
- 4) Inkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37 °C
- 5) Ukur zona hambat yang terbentuk

**b. Pengujian desinfektan dan antiseptik dengan kertas cakram**

- 1) Pembuatan larutan fenol
  - a) Larutkan 1 g fenol dalam 90 ml air aquadest steril
  - b) Buat pengenceran 1:100, dengan cara pipetkan 1 ml fenol ke dalam 99 ml akuades steril
- 2) Pembuatan larutan desinfektan
  - a) Buat pengenceran desinfektan 1:250 dengan cara memipetkan 1 ml larutan desinfektan ke dalam 249 ml akuades steril
  - b) Buat pengenceran 1:300 dengan cara memipetkan 1 ml larutan desinfektan ke dalam 299 ml akuades steril
  - c) Buat pengenceran 1: 350 dengan cara memipetkan 1 ml larutan desinfektan ke dalam 349 ml akuades steril
  - d) Buat pengenceran 1:400 dengan cara memipetkan 1 ml larutan desinfektan ke dalam 399 ml akuades steril
- 3) Uji koefisien fenol
  - a) Dipipetkan inokulum sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan fenol 1:90, homogenkan.
  - b) Tunggu sampai 5 menit
  - c) Ambil 1 ose dari campuran dan inokulasikan pada media NA
  - d) Lakukan hal yang sama untuk fenol 1:100, desinfektan 1:250, 1:300, 1:350 dan 1:400
  - e) Dipipetkan inokulum sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan fenol 1:90, homogenkan.
  - f) Tunggu sampai 10 menit
  - g) Ambil 1 ose dari campuran dan inokulasikan pada media NA
  - h) Lakukan hal yang sama untuk fenol 1:100, desinfektan 1:250, 1:300, 1:350 dan 1:400
  - i) Dipipetkan inokulum sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan fenol 1:90, homogenkan.  
Tunggu sampai 15 menit
  - j) Ambil 1 ose dari campuran dan inokulasikan pada media NA

- k) Lakukan hal yang sama untuk fenol 1:100, desinfektan 1:250, 1:300, 1:350 dan 1:400
- l) Inkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37 °C
- m) Amati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada setiap media

#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1 Hasil

- a. Gambar hasil pengamatan
- b. Tabel pengamatan

##### 4.2 Pembahasan

(efektivitas dan efisiensi desinfektan dan antiseptik, koefisien fenol dari masing-masing perlakuan, desinfektan yang efektif dan kurang efektif dari fenol. Bandingkan hasil yang didapat dengan pustaka).

#### V. KESIMPULAN

(Hasil kesimpulan merupakan penjelasan akhir dari hasil dan mengacu pada tujuan).

#### DAFTAR REFERENSI

(Tidak diperkenankan sumber dari blog dan wikipedia).

**Disetujui oleh :**

Tanda Tangan Dosen	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

Catatan : Kelengkapan laporan sesuai dengan yang di praktikumkan.

## ACARA III

### PENGENDALIAN BAKTERI MENGGUNAKAN ANTIBIOTIK

#### I. TUJUAN

Mahasiswa mampu mengetahui sensitivitas yang dimiliki antibiotik

#### II. DASAR TEORI

Antibiotik merupakan produk metabolik yang dihasilkan oleh mikroba yang dalam jumlah sedikit mampu merusak atau menghambat organisme lain. Berdasarkan aktivitasnya antibiotik dibedakan menjadi antibiotik berspektrum luas dan antibiotik berspektrum sempit. Antibiotik berspektrum luas, efektif untuk organisme Gram + dan Gram -. Sering digunakan untuk mengobati infeksi yang belum diidentifikasi. Cont: tetrasiklin. Antibiotik berspektrum sempit, efektif untuk melawan melawan satu jenis organisme. Bersifat selektif sehingga lebih aktif dalam melawan organisme tunggal. Cont: penisilin

Prosedur difusi-kertas cakram-agar yang distandarisasikan (metode Kirby-Bauer) merupakan cara untuk menentukan sensitivitas antibiotik untuk bakteri. Sensitivitas suatu bakteri terhadap antibiotik ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk. Semakin besar diameternya maka semakin terhambat pertumbuhan bakteri, sehingga diperlukan standar acuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut resisten terhadap suatu antibiotik.

#### III. METODE KERJA

##### 3.1. Alat dan Bahan

###### a. Alat

- |   |             |
|---|-------------|
| - Tabung reaksi                                 | - Sprayer   |
| - Cawan petri                                   | - Inkubator |
| - Pipet ukur dan <i>filler</i>                  | - Autoklaf  |
| - <i>Cotton Bud</i> / <i>Cotton swab</i> steril | - Pinset    |

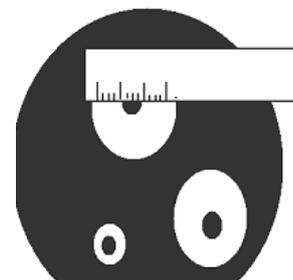
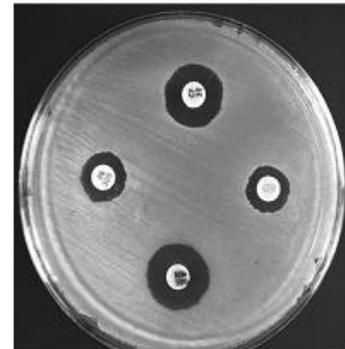
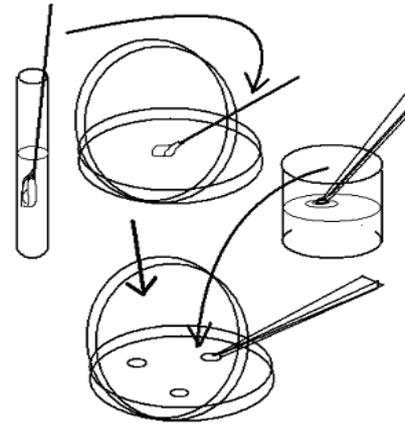
###### b. Bahan

- |                  |                                    |
|------------------|------------------------------------|
| - Akuades steril | - Media <i>Mueller-Hinton Agar</i> |
| - Alkohol 70%    | - Kertas cakram                    |

- Spirtus
- Chloramphenicol
- Tetracycline
- Ampicilin
- Isolat *E. coli*
- Isolat *B. subtilis*
- Isolat *Staphylococcus aureus*

### 3.2. Cara Kerja

- a. Celupkan *cotton bud* / *cotton swab* steril dalam biakan bakteri, tekan ke sisi tabung agar air tiris
- b. Ulaskan pada seluruh permukaan cawan *Mueller-Hinton Agar* secara merata
- c. Diamkan selama 5 menit
- d. Kertas cakram dicelupkan dalam larutan antibiotik dengan konsentrasi tertentu
- e. Angkat, diamkan sejenak hingga tiris
- f. Letakkan kertas cakram pada permukaan agar
- g. Tekan dengan menggunakan pinset supaya menempel pada permukaan agar
- h. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 2x24 jam
- i. Ukur diameter zona hambat (mm), Bandingkan dengan tabel sensitivitas antibiotik



Antibiotic	Resistant	Intermediate	Susceptible
Tetracycline	= 14	15-18	= 19
Ciprofloxacin	= 15	16-20	= 21
Enoxacin	= 14	15-17	= 18
Erythromycin	= 13	14-22	= 23
Penicillin Staphylococci	= 28		= 29
Oxacillin Staphylococci	= 10	11-12	= 13
Tobramycin	= 12	13-14	= 15
Ceftriaxone	= 13	14-20	= 21
Kanamycin	= 13	14-17	= 18
Clindamycin	= 14	15-20	= 21
Piperacillin Gram negatives	= 17	18-20	= 21
Ampicillin Gram negative enterics Staphylococci	= 13 = 28	14-16	= 17 = 29

Tabel 1. Penentuan Sensitivitas Antibiotik (diameter zona hambat dalam mm)

#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1. Hasil

- a. Gambar hasil pengamatan
- b. Tabel pengamatan

##### 4.2. Pembahasan

(Penjelasan hasil yang didapat, sensitivitas antibiotik. Bandingkan hasil yang didapat dengan pustaka)

#### V. KESIMPULAN

(Hasil kesimpulan merupakan penjelasan dari hasil dan mengacu pada tujuan)

#### DAFTAR REFERENSI

(Tidak diperkenankan sumber dari blog dan wikipedia).

Disetujui oleh :

Tanda Tangan Dosen	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

Catatan : Kelengkapan laporan sesuai dengan yang di praktikumkan.

**DAFTAR REFERENSI**

- Anonim. 2008. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Pakpahan. M., C.N. Ekowati dan K. Handayani. 2013. Karakteristik fisiologi dan Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Naungan di Lingkungan Universitas Lampung.