

MEDIA DAN ZAT WARNA YANG DIGUNAKAN PADA
PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI
Oleh : Dra. Yanti Hamdiyati, M.Si.

Macam-macam media yang digunakan untuk kegiatan Mikrobiologi

Kaldu Nutrisi (pH 6,8 – 7,3)

- ekstrak daging	1000 ml	Atau Beef ekstrak (dari 0,5 kg daging)	3 gr
- Pepton	10 gr		
- NaCl	5 gr		

Didihkan suspensi tersebut selama 20 menit, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 – 20 menit.

Kaldu Nutrisi Agar (pH 6,8 – 7,3)

- ekstrak daging	1000 ml	Atau Beef ekstrak (dari 0,5 kg daging)	3 gr
- Pepton	10 gr		
- NaCl	5 gr		
- Agar - agar	15 gr		

Didihkan suspensi tersebut selama 20 menit, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 – 20 menit.

Tauge Agar

- ekstrak tauge	1000 ml
(dari 100 gr tauge)	
- Sukrosa	60 gr
- Agar - agar	15 gr

Didihkan suspensi tersebut selama 20 menit, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 – 20 menit.

Kaldu Laktosa (pH 7 – 7,2)

- ekstrak daging	1000 ml
- Pepton	10 gr
- NaCl	5 gr
- Laktosa	5 gr

- Phenol red/bcp 0,01 gr

Didihkan ,atur pH 7 – 7,2. Sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 – 20 menit.

Eosin Metilen Blue Agar (EMB) pH 7,1 – 7,2

- Pepton 10 gr
- Laktosa 5 gr
- Sukrosa 5 gr
- K₂HPO₄ 2 gr
- Agar 13,5 gr
- Eosin Y 0,4 gr
- Metilen Blue 0,065 gr
- Aquadest 1000 ml

Larutkan metilen blue, dan eosin Y dengan sedikit aquadest, tambahkan bahan yang lainnya, didihkan, atur pH 7,1-7,2, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 – 20 menit.

Nitrogen free Mannitol Broth (pH 8,3)

- Manitol 15 gr
- K₂HPO₄ 0,5 gr
- MgSO₄ 0,2 gr
- CaSO₄ 0,1 gr
- NaCl 0,2 gr
- CaCO₃ 5 gr
- Aquadest 1000 ml

Larutkan semua bahan panaskan sebentar, atur pH, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 – 20 menit.

Nitrogen free Mannitol Agar (pH 8,3)

- Manitol 15 gr
- K₂HPO₄ 0,5 gr
- MgSO₄ 0,2 gr
- CaSO₄ 0,1 gr
- NaCl 0,2 gr
- CaCO₃ 5 gr

- Agar 15 gr
- Aquadest 1000 ml

didiikan, atur pH, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 – 20 menit.

Yeast Mannitol Broth (pH 7,3)

- Beef ekstrak 3 gr
- Pepton 5 gr
- NaCl 5 gr
- Mannitol 10 gr
- Yeast Ekstrak 5 gr

Larutkan, atur pH, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 – 20 menit.

Yeast Mannitol Agar (pH 7,4)

- Beef ekstrak 3 gr
- Pepton 5 gr
- NaCl 5 gr
- Mannitol 10 gr
- Yeast Ekstrak 5 gr
- Agar 15 gr

Didiikan, atur pH, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 – 20 menit.

Medium Agar Lipid (pH 7,2)

- Pepton 5 gr
- Beef ekstrak 3 gr
- Agar 15 gr
- Lipid 10 gr
- Neutral red 0,02 gr
- Aquades 1000 ml

Campurkan semua bahan, panaskan sampai mendidih. Selama pemanasan medium diaduk terus. Masukkan ke dalam tabung reaksi 12 – 15 ml, sterilkan dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

Medium Agar Pati (pH 7)

- Pepton 5 gr
- Beef ekstrak 3 gr
- Amilum 2 gr
- Agar 15 gr
- Aquades 1000 ml

Campurkan semua bahan, panaskan sampai mendidih. Selama pemanasan medium diaduk terus sampai homogen. Masukkan ke dalam tabung reaksi 12 – 15 ml, sterilkan dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

Medium Gelatin (pH 6,8)

- Pepton	5 gr
- Beef ekstrak	3 gr
- Gelatin	120 gr
- Aquades	1000 ml

Campurkan semua bahan, panaskan sampai mendidih. Selama pemanasan medium diaduk terus. Masukkan ke dalam tabung reaksi 12 – 15 ml, sterilkan dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

Medium Susu Litmus (pH 6,8)

- Skim milk powder	100 gr
- Litmus	0,75 gr
- Aquades	1000 ml

Larutkan litmus dengan sedikit aquades sampai larut, untuk mempercepat kelarutan bisa dipanaskan. Masukkan larutan tersebut ke dalam gelas kimia yang berisi skim milk powder, aduk sampai homogen. Masukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 8 ml, sterilkan dengan tekanan 12 lbs selama 15 menit.

Medium SusuAgar (pH 7,2)

- Skim milk powder	100 gr
- Pepton	5 gr
- Agar	15 gr
- Aquades	1000 ml

Campurkan agar, pepton dan aquades, panaskan sampai mendidih, angkat, tuangkan ke dalam gelas kimia berisi skim milk powder sedikit – sedikit supaya tidak menggumpal,kocok sampai homogen. Masukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 12 – 15 ml, sterilkan dengan tekanan 12 lbs selama 15 menit.

B. Zat warna yang digunakan untuk kegiatan mikrobiologi

Nigrosin (untuk pewarnaan negatif)

- Nigrosin	10 gr
------------	-------

- Akuades	100 ml
-----------	--------

Larutkan, didihkan selama 30 menit, tambah formalin 40 % 0,5 ml sebagai pengawet, saring dengan kertas saring dua kali.

Safranin (untuk pewarnaan Gram)

- Safranin O	250 mgr
- Ethanol 95%	10 ml
- Akuades	100 ml

Crystal violet (untuk pewarnaan Gram)

- Larutan A	:	- crystal violet	2 gr
		- ethanol 95%	20 ml
- Larutan B	:	- Amonium oxalate	0,8 gr
		- akuades	80 ml

Campurkan larutan A dan B.

Lugol (untuk pewarnaan Gram)

- Kristal Jodium	3 gr
- Kristal KJ	6 gr
- Akuades	1000 ml

Methylene Blue (untuk pewarnaan sederhana)

- Larutan A	:	- Methylene blue	0,3 gr
		- ethanol 95%	30 ml
- Larutan B	:	- KOH	0,01 gr
		- akuades	100 ml

Campurkan larutan A dan B.

Malakit Hijau (untuk pewarnaan endospora)

- Kristal malakit hijau	5 gr
- Akuades	100 ml

Safranin (untuk pewarnaan endospora)

- Safranin O	0,5 gr
- Akuades	100 ml

Kristal violet (untuk pewarnaan kapsul)

- Kristal violet	1 gr
- Akuades	100 ml

CuSO₄. 5 H₂O 20% (untuk pewarnaan kapsul)

- | | |
|--|-------|
| - CuSO ₄ . 5 H ₂ O | 20 gr |
| - Akuades | 80 ml |