

MODUL PRAKTIKUM BAKTERIOLOGI



**BAGI MAHASISISWA PRODI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK**

Disusun oleh :

Raden Mustopa, S.KM., M.P.H

Yusianti Silviani, S.Pd Bio, M.Pd

Seri Rayani Bangun, S.Kp., M.Biomed

Dian Rachma Wijayanti, M.Sc

Dita Artanti, S.Si., M.Si

Dra. Ratih Dewi Dwiyantri, M.Kes

Imas Latifah, SKM., M.KKK

**ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)**

2024

MODUL PRAKTIKUM BAKTERIOLOGI BAGI MAHASISWA PRODI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK

Raden Mustopa, S.KM., M.P.H
Yusianti Silviani, S.Pd Bio, M.Pd
Seri Rayani Bangun, S.Kp., M.Biomed
Dian Rachma Wijayanti, M.Sc
Dita Artanti, S.Si., M.Si
Dra. Ratih Dewi Dwiyantri, M.Kes
Imas Latifah, SKM., M.KKK
Dra. Estu Lestari, MM (Reviewer)



ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI LABORATORIUM
MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)

Judul Buku:

MODUL PRAKTIKUM BAKTERIOLOGI

Penulis:

Raden Mustopa, S.KM., M.P.H

Yusianti Silviani, S.Pd Bio, M.Pd

Seri Rayani Bangun, S.Kp., M.Biomed

Dian Rachma Wijayanti, M.Sc

Dita Artanti, S.Si., M.Si

Dra. Ratih Dewi Dwiyantri, M.Kes

Imas Latifah, SKM., M.KKK

Dra. Estu Lestari, MM (Reviewer)

PRAKATA

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmatNya sehingga modul ini bisa tersusun dengan baik. Modul ini disusun agar dapat digunakan oleh semua perguruan kesehatan khususnya program studi Teknologi Laboratorium Medis di Indonesia yang memuat teori dan langkah-langkah praktek serta dilengkapi dengan jurnal pelaporan hasil praktek yang terperinci.

Saya selaku ketua AIPTLMI mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada para dosen TLM dan pihak lain yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu yang telah berkontribusi menyusun modul, memberikan masukan, dengan segala daya dan upaya hingga tersusunnya modul praktikum ini.

Saya berharap modul ini dapat membantu mahasiswa dalam memahami mata kuliah praktikum Bakteriologi I, dan sebagai salah satu upaya peningkatan kemampuan serta keterampilan di bidang bakteriologi sebagaimana yang diharapkan oleh kurikulum kesehatan dan tuntutan kebutuhan pelayanan kesehatan khususnya teknologi laboratorium medis. Masukan dan saran dari berbagai pihak yang berkompeten dalam bidang ini sangat diharapkan untuk penyempurnaan penyusunan modul selanjutnya.

Jakarta, Agustus 2024

Ketua Umum AIPTLMI

Prof. Dr. Budi Santosa, M.Si.Med

DAFTAR ISI

PRAKATA	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR GAMBAR.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
TATA TERTIB PRAKTIKUM BAKTERIOLOGI.....	vi
PETUNJUK KERJA DI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI.....	vii
BAB I BAKTERI TAHAN ASAM	1
1. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1
2. <i>Mycobacterium leprae</i>	20
BAB II BAKTERI GRAM POSITIF	27
1. <i>Clostridium</i> / <i>Bacillus</i>	27
2. <i>Staphylococcus</i>	33
3. <i>Streptococcus</i>	40
4. <i>Pneumokokus: Streptococcus pneumoniae</i>	50
BAB III BAKTERI GRAM NEGATIF	57
1. <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>).....	57
2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	66
3. <i>Salmonella sp.</i>	74
4. <i>Shigella sp.</i>	83
5. <i>Proteus mirabilis</i>	90
6. <i>Acinetobacter baumannii</i>	99
7. <i>Pseudomonas sp</i>	107
8. <i>Vibrio</i>	115
9. Genus <i>Haemophilus</i>	126
10. Genus <i>Corynebacterium</i>	133
11. <i>Neisseria sp</i>	141
BAB IV BAKTERIOLOGI MAKANAN MINUMAN	151
A. Pemeriksaan Angka Kuman atau Angka Lempeng Total (ALT)	154
B. Pemeriksaan Angka Paling Mungkin (APM).....	156
BAB V UJI MOLEKULER (BTA)	163

BAB VI UJI RESISTENSI.....	174
GLOSARIUM	179
DAFTAR PUSTAKA	180

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Tempat Pengumpulan Sputum	3
Gambar 2 Pot Sputum	5
Gambar 3 Jenis Sputum.....	7
Gambar 4 Penilaian Kualitas Secara Mikroskopis	7
Gambar 5 Hasil pembuatan Preparat	15
Gambar 6 Pertumbuhan <i>S. pneumoniae</i>	51
Gambar 7 Pertumbuhan <i>Salmonella Sp</i>	75
Gambar 8 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	109
Gambar 9 Bakteri <i>Vibrio cholerae</i>	116
Gambar 10 Bakteri <i>H. influenzae</i>	127
Gambar 11 Komposisi CHOC agar.....	128
Gambar 12 Bakteri <i>C. diphtheriae</i>	134
Gambar 13 Proses Pemeriksaan TCM	171
Gambar 14 Deteksi DNA <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (MTB).....	171
Gambar 15 Penanaman Kuman dengan lidi kapas	177
Gambar 16 Zona Pemeriksaan Resistensi	177

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Perhitungan Bakteriologi indek dan Morfologi Indeks	24
Tabel 2 Karakteristik Spesies Streptococcus	42
Tabel 3 Hasil Uji Diagnostik E.coli	58
Tabel 4 Hasil Uji TSIA	59
Tabel 5 Hasil Biokimia Klebsiella	69
Tabel 6 Hasil Uji Biokimia <i>Proteus</i>	93
Tabel 7 Hasil Uji Biokimia <i>Acinetobacter baumannii</i>	101
Tabel 8 Bahan dan Jumlah Thisulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS).....	118
Tabel 9 Interpretasi <u>vibrio</u> berdasarkan warna spesies	121
Tabel 10 Neisseria spesies.....	142
Tabel 11 Interpretasi Hasil Pemeriksaan TCM.....	169

TATA TERTIB PRAKTIKUM BAKTERIOLOGI

1. Peserta praktikum harus sudah bersiap di depan ruang praktikum lima menit sebelum pelaksanaan praktikum dimulai.
2. Sebelum praktikum, percobaan yang akan dilakukan harus disiapkan terlebih dahulu, membuat skema kerja dan pembagian waktunya, serta latar belakang teorinya harus sudah dikuasai.
3. Praktikan yang dinilai tidak siap, tidak diperbolehkan mengikuti praktikum.
4. Semua pekerjaan dan pengamatan harus ditulis dalam buku catatan laboratorium dan pada lembar laporan dalam buku penuntun praktikum, jika ada.
5. Setiap kelompok atau perorangan diharuskan membuat satu laporan sementara untuk setiap percobaan.
6. Praktikan hanya diperbolehkan menggunakan laboratorium pada saat melaksanakan praktikum, kecuali jika mendapat izin dari penanggung jawab praktikum.
7. Pada saat berada di dalam laboratorium praktikan diharuskan memakai baju praktikum (Jas laboratorium) dan alat pelindung diri (APD) lainnya sesuai peraturan yang berlaku.
8. Inventarisasi alat dan bahan dilakukan pada waktu – waktu yang ditetapkan sebelum dan sesudah pelaksanaan praktikum. Alat – alat yang diterima menjadi tanggung jawab kelompok.
9. Jika ada alat yang pecah atau hilang, kelompok harus sudah menggantinya sebelum ujian akhir praktikum.
10. Kebersihan dan ketenangan di dalam laboratorium harus dijaga selama praktikum berlangsung.
11. Tidak diperkenankan untuk makan dan minum di dalam laboratorium.
12. Sangsi akan diberlakukan untuk peserta praktikum yang melanggar tata tertib yang telah ditetapkan.

PETUNJUK PRAKTIKUM DI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI

A. PERSIAPAN

1. Buatlah skema pembagian waktu praktikum yang meliputi : urutan kerja yang dilakukan, apa yang akan dikerjakan lebih dulu, mana yang dapat dikerjakan bersama – sama, dll.
2. Alat – alat yang akan digunakan dipersiapkan dan diatur di meja kerja, buku catatan, daftar – daftar, lap, korek api dan sebagainya juga dipersiapkan.
3. Apabila ada hal-hal yang belum jelas tanyakan kepada disen/instruktur praktikum sebelum mulai kegoatan praktikum.

B. SELAMA PRAKTIKUM

1. Bekerjalah dengan tenang, rapi, hati – hati, teliti, bersih dan hemat, tetapi juga cepat dan lebih teliti.
2. Ingatlah kebutuhan teman lain yang sedang praktikum, kembalikan botol yang digunakan segera ke tempatnya supaya mudah dicari; jangan mengambil peralatan yang sedang digunakan orang lain.
3. Bekerjalah dengan efektif dan efisien sehingga orang lain yang menunggu giliran untuk praktikum tidak menunggu terlalu lama. Harus sabar menunggu giliran menggunakan sesuatu yang diperlukan bersama.
4. Jangan membahayakan orang lain karena api, cara pemanasan larutan dan sebagainya.
5. Menbatasi untuk berbicara seperlunya dan tidak terlalu keras, sehingga tidak mengganggu peserta praktikum lain.
6. Apabila ada sesuatu yang meragukan, bertanyalah pada dosen/instruktur.
7. Harus fokus dan tenang dalam melaksanakan pekerjaan di laboratorium pada saat praktikum.
8. Apabila mengambil reagen, tutup botol harus segera dipasang kembali untuk menghindari kontaminasi yang dapat merusak kemurnian isi botol.
9. Pembuangan bahan kimia yang pekat harus diencerkan terlebih dahulu jangan langsung dibuang ke saluran atau bak.

10. Kertas saring dan benda padat lain harus dibuang ke tempat sampah atau tempat yang disediakan. Meja yang menjadi basah/kotor harus dibersihkan.
11. Harus hemat dalam menggunakan air, api, dan reagen.
12. Apabila suatu reagen diperlukan oleh banyak orang, carilah pekerjaan lain sehingga waktu tidak terbuang untuk menunggu (dalam hal ini perlu dibuat rencana pembagian waktu yang fleksibel dan harus diketahui betul – betul bahan yang akan dipakai).
13. Catatan – catatan atau laporan hasil pengamatan harus singkat, padat dan jelas.
14. Manfaatkan waktu yang luang untuk menyusun laporan praktikum.

C. SELESAI PRAKTIKUM

1. Meja kerja, alat, bahan dan sebagainya harus dibersihkan setelah selesai praktikum.
2. Kembalikan botol – botol reagen ke tempat semula, atur kembali tempat duduk, alat-alat gelas, dan lain-lainnya.
3. Periksa apakah tidak ada kerusakan, jika ada segera laporkan pada dosen/instruktur tentang hal tersebut.
4. Tunggulah ditempat masing – masing, instruktur akan mengumpulkan buku jurnal dan memeriksa keperluan alat-alat dan meja praktikum.
5. Setelah instruktur menyatakan praktikum telah selesai, dipersilahkan untuk keluar ruang laboratorium secara tertib.

PENGENALAN ALAT

Saran, sebaiknya terlebih dahulu dijelaskan tentang alat yang digunakan selama praktikum mikrobiologi secara umum, yang meliputi:

1. Mikroskop
2. Biology Safety Cabinet
3. Lampu bunsen dan spirtus
4. Autoclave
5. Oven
6. Water bath
7. Timbangan
8. Erlemeyer
9. Cawan petri
10. Tabung reaksi
11. Beaker Gelas atau Gelas piala
12. Ose inokulum
13. Batang L
14. Penjepit kayu
15. Pipet
16. Mikropipet
17. Dll..

BAB I

BAKTERI TAHAN ASAM

1. *Mycobacterium tuberculosis*

A. PENGUMPULAN SPUTUM / SPUTUM

a. PENDAHULUAN

a. DESKRIPSI

Diagnosis Tuberculosis (TB) melalui pemeriksaan biakan sputum merupakan metode baku emas (*gold standar*). Namun, waktu pemeriksaan yang dibutuhkan untuk pemeriksaan biakan tersebut lebih lama (paling cepat sekitar 6 minggu) dan harus dikerjakan di laboratorium menggunakan peralatan khusus. Pemeriksaan sputum secara mikroskopis dianggap efisien, mudah dilakukan, biayanya murah, bersifat spesifik, sensitif dan dapat dilaksanakan di semua laboratorium fasilitas pelayanan kesehatan (fasyankes) dilengkapi mikroskop dan tenaga pemeriksa mikroskopis TB terlatih. Pada saat ini metode mikroskopis hanya digunakan untuk pemeriksaan follow up. Sedangkan untuk diagnosa penyakit TB saat ini menggunakan metode molekuler dengan alat test cepat molekuler (TCM) dengan lama waktu pemeriksaan maksimal 2 jam. Pengumpulan contoh uji berupa sputum/ sputum akan menentukan hasil pemeriksaan laboratorium. Bagaimana cara pengumpulan sputum yang benar? Apa ciri sputum yang berkualitas? Seorang ATLM harus mengetahuinya agar hasil pemeriksaan menghasilkan informasi sesuai dengan kondisi pasien sebenarnya.

b. PETUNJUK,

Langkah-langkah kegiatan dalam proses pembelajaran materi ini adalah sebagai berikut:

- a. Disapanya mahasiswa dengan ramah dan hangat oleh dosen.
- b. Disampaikannya tujuan pembelajaran materi ini dan pokok bahasan yang akan disampaikan, sebaiknya dengan menggunakan bahan tayang.
- c. Disampaikannya lingkup bahasan dan tujuan pembelajaran terkait Program Penanggulangan TB dengan metode ceramah, diskusi dan tanya jawab.
- d. Dipaparkan materi sesuai dengan urutan pokok bahasan dan sub pokok bahasan dengan menggunakan slide presentasi. Pendapat yang

dikemukakan oleh mahasiswa dikaitkan dengan materi yang disampaikan agar mereka merasa dihargai.

- e. Mahasiswa harus diberikan kesempatan untuk menanyakan hal-hal yang kurang jelas dan langsung dijawab oleh dosen.

c. TUJUAN,

1. Umum : Setelah melaksanakan praktikum materi ini mahasiswa mampu melakukan uji sputum yang berkualitas
2. Khusus :
 - a. Menentukan jenis uji untuk pemeriksaan laboratorium TB
 - b. Memberikan penjelasan mengenai cara penampungan sputum
 - c. Melakukan pengumpulan sputum
 - d. Melakukan penilaian kualitas sputum

d. KOMPETENSI

Kompetensi yang diharapkan untuk dicapai terkait materi ini adalah

1. Menentukan cara persiapan pasien
2. Memberikan penjelasan tentang penampungan sputum sputum
3. Melakukan pengumpulan sputum
4. Menilai kualitas sputum

B. PRAKTIKUM

a. MATERI,

Teknik pemeriksaan BTA adalah mengumpulkan, pembuatan dan pewarnaan, serta pemeriksaan mikroskopis sputum pasien yang diduga terinfeksi kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Pemeriksaan ini sangat mudah dilakukan dan tidak memerlukan waktu lama. Pemeriksaan dilakukan dengan mengumpulkan 2 spesimen sputum pasien yang diduga terinfeksi tuberkulosis dengan interval pengumpulan sputum antara 8 sampai 24 jam, atau untuk lebih memudahkan dengan menggunakan sistem Sewaktu-Pagi (SP) atau Pagi Sewaktu (PS) atau Sewaktu–Sewaktu (SS) yaitu :

- S (Sewaktu pertama):
Sputum dikumpulkan saat pasien pertama kali datang laboratorium
- P (Pagi):

Sputum dikumpulkan pagi setelah bangun tidur pada hari ke-2, dan langsung dibawa oleh pasien ke laboratorium

- S (Sewaktu kedua):
Sputum pada hari ke-2 dikumpulkan di laboratorium pada saat pasien menyerahkan sputum pagi.
- SS → Bisa pada hari yang sama dengan rentang waktu pengambilan minimal 1 (satu) jam, sputum yang dikumpulkan harus berkualitas.

Berikut adalah uraian system pengumpulan sputum berdasarkan waktu pengambilan:

1. SP adalah S (Sewaktu): Sputum dikumpulkan pada saat datang pertama kali ke laboratorium. Sedangkan P (Pagi): Sputum ditampung pagi hari sesaat setelah bangun tidur pada hari ke-2, dan dibawa ke laboratorium langsung oleh pasien.
2. PS adalah P (Pagi) Sputum ditampung pagi hari sesaat setelah pada hari ke-1, dan langsung dibawa ke laboratorium oleh pasien. Pada saat pasien menyerahkan sputum ke laboratorium, sputum pasien kembali diminta untuk dikumpulkan disebut S (Sewaktu).
3. Pasien diperbolehkan untuk mengumpulkan dua sputum SS (sewaktu- sewaktu) di hari yang sama untuk mengatasi pasien yang susah datang keesokan harinya karena kondisi atau jarak tempat tinggal yang jauh.. Rentang waktu pengambilan sputum minimal 1(satu) jam, dan sputum harus berkualitas.

Wadah penampungan sputum harus memiliki syarat tertentu agar aman buat pasien lain dan petugas laboratorium. Pengumpulan sputum dapat dilakukan di ruang terbuka yang terkena sinar matahari langsung. Bila dilakukan dalam ruang tertutup harus memiliki ventilasi yang cukup. Pada tempat pengumpulan sputum harus tersedia wastapel untuk cuci tangan pakai sabun dan tong sampah.



Gambar 1 Tempat Pengumpulan Sputum

<https://puskesmassungkai.wordpress.com/2019/07/30/cegah-penularan-penyakit-menular-puskesmas-simpang-empat-2-buat-lorong-p2p/>

Pasien diberitahu bahwa sputum yang dikumpulkan sangat bernilai sebagai bahan penentu untuk diagnosa penyakitnya, oleh sebab itu dianjurkan untuk diperiksa sebanyak dua kali (SP, PS atau SS) untuk pasien yang baru dan dalam pemantauan pengobatan. Sputum yang baik adalah yang berasal dari saluran nafas bagian bawah, yang berupa lendir berwarna kuning kehijauan (mukopurulen). Pasien mengeluarkan sputum dalam keadaan perut kosong sebelum makan/minum dan terlebih dahulu membersihkan rongga mulut dengan berkumur menggunakan air bersih. Apabila mendapatkan kesulitan pada saat mengeluarkan sputum, pasien dapat diberi obat ekspektoran untuk merangsang pengeluaran sputum yang diminum pada malam sebelum mengeluarkan sputum. Cara lain untuk membantu dalam pengeluaran sputum, olahraga ringan sebelum mengeluarkan sputum juga dapat merangsang sputum keluar. Sputum merupakan bahan infeksius sehingga pasien harus berhati-hati pada saat mengeluarkan sputum dan tidak lupa mencuci tangan setelah pengeluaran sputum untuk menghindari penularan kepada orang lain. Sebelum pengumpulan sputum, pasien diberi penjelasan cara pengumpulan sputum yang benar di tempat/lokasi penampungan sputum.

Setelah pengumpulan sputum petugas laboratorium harus melakukan penilaian terhadap kualitas sputum pasien., petugas laboratorium melihat sputum melalui dinding pot yang transparan tanpa membuka tutup pot penampung sputum. Beberapa hal yang perlu diperhatikan adalah :

1. Volume sputum: 1 - 4 ml ·
2. Kekentalan : muroid,
3. Warna : Hijau kekuningan (purulen)

Apabila ternyata spesimen sputum yang diserahkan ke laboratorium adalah air liur, maka petugas laboratorium harus meminta pasien untuk mengulang menampung sputum kembali dan sebaiknya dengan pendampingan. Pada saat mendampingi pasien, petugas laboratorium harus berada di belakang pasien dan menghindari arah angin menuju petugas.

Kualitas hasil pemeriksaan laboratorium merupakan inti keberhasilan dalam penanggulangan TB. Setiap laboratorium harus melakukan kegiatan pemantapan mutu, termasuk pemeriksaan BTA secara mikroskopis.

- **ALAT BAHAN,**

Pot sputum

- a. Bersih dan kering (bila untuk biakan harus steril)
- b. Mulut pot berdiameter 4 - 6 cm,
- c. Tidak berwarna dan transparan
- d. Memiliki tutup ulir
- e. Pot tidak bocor.

Catatan : Pot sputum harus sudah diberi identitas sesuai identitas/nomor register pasien sebelum diserahkan kepada pasien.

- Label, pensil, spidol



Gambar 2 Pot Sputum

<https://www.google.com/search?q=pot+sputum+animasi&udm=2&sa=X&ved=2ahUKEwi1t8mi8NaGAXgS2wGHXqcAhQ4FBCs3AJ6BAgDEAA&biw=638&bih=574&dpr=1.5#vhid=2HPIXsPV8RoO4M&vssid=mosaic>

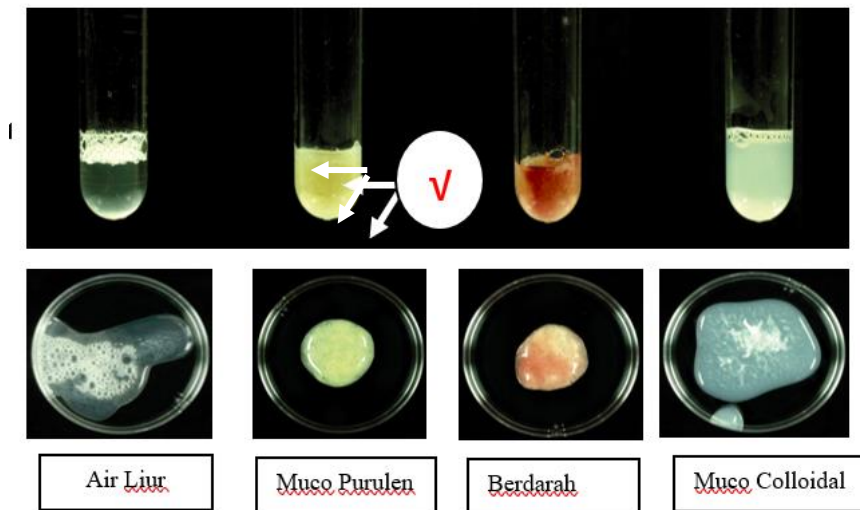
b. PROSEDUR

1. Cara Pengumpulan Sputum

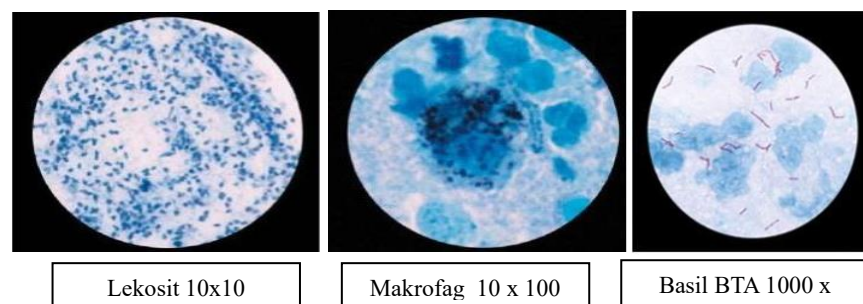
Untuk mendapatkan sampel sputum yang baik, berikan penjelasan kepada suspek TB tentang cara mengumpulkan sputum sebagai berikut :

- a. Sebelum mengeluarkan sputum pasien harus berkumur dengan air bersih
- b. Apabila memakai gigi palsu, sebelum berkumur harus dilepaskan
- c. Tarik nafas dalam (2-3 kali) dan setiap kali nafas hembuskan dengan kuat
- d. Pot yang sudah dibuka segera dekatkan ke mulut dan batukkan dengan keras langsung kedalam pot sputum
- e. Tutup pot yang berisi sputum dengan rapat
- f. Anjurkan penderita membersihkan mulut dengan kertas tisu yang bersih dan mencuci tangan setelah selesai penampungan sputum
- g. Buang kertas tisu kedalam tong sampah yang telah disiapkan.

- h. Proses di atas dapat diulang bila perlu, sampai mendapatkan sputum yang berkualitas baik dan volume yang cukup (3-5ml).
 - i. Apabila sputum sulit untuk dikeluarkan, maka lakukan hal sebagai berikut:
 - a. Olahraga ringan kemudian menarik nafas dalam beberapa kali. Apabila terasa akan batuk, nafas ditahan selama mungkin lalu dibatukan..
 - b. Minum banyak air atau menelan 1 tablet *glyceryl Guaiacolate (GG)* 100 mg pada malam hari sebelum tidur
2. Cara Penilaian Kualitas Sputum
- a. Makroskopis
 - Periksa warna dan volume sputum yang telah ditampung dalam pot sputum
 - Periksa apakah ada darah, sisa makanan atau partikel padat lain
 - sisa makan atau partikel padat lainnya.
 - Catat hasilnya
 - b. Mikroskopis
 - Periksa preparat yang telah diwarnai dibawah Mikroskop menggunakan lensa objektif 10 amati sel lekosit
 - Lanjutkan deteksi keberadaan partikel debu pada pembesaran 1000 x.
 - Catat hasilnya
 - Interpretasi Hasil
 - Sputum yang berkualitas baik adalah mucopurulent dalam tampilan visual.
 - Jumlah lekosit ≥ 25 sel lekosit
 - Tidak ditemukan partikel debu pada pemeriksaan mikroskopis pembesaran 1000 x.



Gambar 3 Jenis Sputum



Gambar 4 Penilaian Kualitas Sputum Secara Mikroskopis

Sumber : Rahma EA tahun 2022

c. EVALUASI

1. Bagaimana persiapan pasien untuk pemeriksaan Mikroskopis BTA?
2. Bagaimana cara mengeluarkan sputum yang benar ?
3. Sebutkan waktu pengumpulan sputum yang benar !
4. Bagaimana cara menilai kualitas sputum yang benar ?

PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS BTA

PENDAHULUAN

1. DESKRIPSI

Metoda pemeriksaan sputum secara mikroskopis langsung yang berkualitas menjadi komponen penting untuk menegakkan diagnosa maupun *follow up* penyakit infeksi TB. Hasil pemeriksaan sputum merupakan hal penting untuk menentukan klasifikasi penderita, pengambilan keputusan untuk memulai pengobatan dan menyatakan kesembuhan penderita. Setiap laboratorium yang melakukan pemeriksaan TB harus melakukan kegiatan pemantapan mutu, termasuk pemeriksaan BTA secara mikroskopis.

Pemeriksaan sputum secara mikroskopis untuk menemukan bakteri tuberkulosis merupakan diagnosis tuberkulosis paru dalam program penanggulangan tuberkulosis, pada pasien tuberkulosis dianjurkan untuk mengambil 2 spesimen sputum yaitu sputum sewaktu dan pagi hari dikenal dengan istilah SP. Berbagai pemeriksaan penunjang lain juga digunakan untuk diagnosis TB seperti foto toraks (rontgen paru), tes cepat molekuler (TCM), kultur dan uji *sensitivity* pendukung pemeriksaan tuberkulosis (Kementrian Kesehatan RI, 2014).

Spesies bakteri *M. tuberculosis* yang ditemukan pada tahun 1882 oleh Robert Koch memiliki 9 sub spesies antara lain *M. tuberculosis sensu stricto*, *M. africanum*, *M. canetti*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, dan *M. orygis*. Bakteri ini membutuhkan oksigen untuk tumbuh, tidak menghasilkan spora, dan non motil. *M. tuberculosis* membelah setiap 18-24 jam. Pembelahan ini sangat lambat jika dibandingkan bakteri lain yang cenderung membelah dalam beberapa menit. Bakteri ini berbentuk basil kecil yang resistan terhadap disinfektan kadar rendah dan dapat bertahan dalam lingkungan kering selama berminggu-minggu. Dinding sel *M. tuberculosis* berbeda dari bakteri lainnya yang kaya akan lipid seperti asam mikolat dan kemungkinan besar digunakan untuk bertahan dari kekeringan serta salah satu faktor virulensi.

Klasifikasi dari *Mycobacterium tuberculosis*
Kingdom : Bacteria

Filum : Actinobacteria

Kelas : Actinobacteria

Ordo	: Actinomycetales
Family	: Mycobacteriaceae
Genus	: <i>Mycobacterium</i>
Spesies	: <i>M. tuberculosis</i>

Struktur atau unsur-unsur dinding sel

Struktur dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* unik diantara prokariota lain dan merupakan faktor utama virulensi bakteri. Kompleks dinding sel mengandung peptidoglikan dan juga terdiri dari lipid yang kompleks. Lebih dari 60% dinding sel bakteri ini adalah lipid. Fraksi lipid dinding sel *M. tuberculosis* terdiri dari tiga komponen utama yaitu asam mikolat, cord factor dan wax-D. Asam mikolat adalah lipid bercabang alfa unik yang ditemukan didinding sel *Mycobacterium* dan *Corynebacterium*. Asam mikolat membentuk 50% dari berat kering selubung sel mikobakteri. Asam mikolat adalah molekul hidrofobik kuat yang membentuk cangkang lipid di sekitar bakteri dan mempengaruhi sifat permeabilitas pada permukaan sel. Asam mikolat dianggap sebagai penentu virulensi yang signifikan pada *M. tuberculosis* karena dapat mencegah serangan mikobakteri oleh protein kationik, lisozim, dan oksigen radikal dalam granula fagositik. Asam mikolat juga mampu melindungi mikobakteri ekstraseluler dari pengendapan komplemen dalam serum.

Lipid

Bagian luar dari dinding sel BTA tersusun dari lapisan lipid tebal. Kandungan lipid dari dinding sel mencakup kira-kira 60% dari seluruh komponen dinding sel. Unsur lipid dari dinding sel tersebut, sebagian besar terikat pada protein dan polisakarida. Tingginya kandungan lipid pada dinding sel membuat organisme ini tahan asam. Selain itu, unsur lipid pada dinding sel menyebabkan daya tahan mikroorganisme terhadap zat bakterisidal, daya tahan terhadap zat yang terdapat dalam sel makrofag bila organisme tersebut difagosit oleh makrofag. Peran lain dari lipid dinding sel BTA adalah dalam sifat virulensi organisme. Lapisan luar berikatan dengan lapisan dalam (peptidoglikan) melalui asam mikolat dan *arabinogalaktan*. Peptidoglikan merupakan polimer kompleks yang terdiri dari *N-acetyl glucosamine* dan *N-acetylmuramic acid*. Selain itu terdapat lipoarabinomanan yang tertanam pada

lapisan membran sebelah dalam dan gugus polisakaridanya menjulur ke luar melewati lapisan peptidoglikan. Kompleks lipid dinding sel dapat dibedakan dalam beberapa jenis:

1. Asam lemak rantai panjang (C78 - C90) yang disebut asam mikolat. Hanya terdapat pada *Mycobacteria*, asam mikolat berupa kompleks yang terdiri dari *mycosides-waxes-D*, *trehaloses-6*, *6'-dimycolate* dan *sulfolipid*. Kompleks asam mikolat bertanggung jawab akan sifat tahan asam organisme, berperan dalam terbentuknya granuloma dan diduga berperan dalam menghambat proses fagositosis.
2. *Wax D*, digunakan pada hewan percobaan untuk meningkatkan respons imun terhadap banyak antigen dan
3. Fosfatida, fraksi fosfatida dari sel berperan dalam menghasilkan respons seluler yang menyerupai tuberkel dan nekrosis kaseosa/perkijuan. Strain virulen membentuk serpentin dan faktor cord (Adanya factor cord menyebabkan BTA tersusun dalam rantai pendek secara mikroskopik). Faktor Cord yang dikaitkan dengan kemampuan strain virulent menyebabkan penyakit adalah *XXXXXXXXX*, juga berperan dalam menghambat migrasi lekosit, menyebabkan granuloma menahun dan sebagai suatu adjuvant imunologik, mengaktivasi jalur komplemen alternatif, bersifat toksik yang mematikan pada tikus yang dikaitkan dengan kerusakan membran mitokondria. Secara umum komponen lipid dinding sel bertanggung jawab atas reaksi seluler jaringan terhadap basil tuberkel, sifat tahan asam sel bakteri, daya tahan terhadap bahan bakterisid. Komponen lipid dinding sel juga bertanggung jawab akan daya tahan terhadap zat yang terdapat dalam sel fagosit, proses fagositosis oleh makrofag, bertanggung jawab atas terjadinya nekrosis kaseosa atau perkijuan dan sifat virulensi mikroorganisme.

Protein

Unsur protein dinding sel bakteri bertanggung jawab akan sifat antigenik mikroorganisme. Kandungan protein dari sel bakteri mengakibatkan atau bertanggung jawab pada reaksi tuberkulin. Protein yang terikat dengan lilin berperan atau menimbulkan pembentukan berbagai antibodi bila organisme ini masuk ke dalam tubuh.

Polisakarida

Polisakarida dinding sel bakteri menyebabkan atau bertanggung jawab atas terjadinya reaksi hipersensitivitas tipe cepat, juga bertanggungjawab akan sifat antigenik sel bakteri. Komponen polisakarida dinding sel juga dapat mengganggu atau menyebabkan beberapa reaksi silang pada reaksi antigenantibodi In-vitro.

2. PETUNJUK,

Berikut disampaikan langkah-langkah kegiatan dalam proses pembelajaran materi:

1. Dosen menyapa mahasiswa dengan ramah dan hangat .
2. Sampaikan tujuan pembelajaran materi ini dan pokok bahasan yang akan dipraktikkan, sebaiknya dengan menggunakan bahan tayang.
3. Jelaskan ruang lingkup bahasan dan tujuan pembelajaran tentang Program Penanggulangan TB yang sebaiknya dengan menggunakan metode tanya jawab
4. Sampaikan paparan materi sesuai urutan pokok bahasan dan sub pokok bahasan dengan menggunakan bahan tayang. Kaitkan juga dengan pendapat/pemahaman yang dikemukakan oleh mahasiswa agar mereka merasa dihargai.
5. Berikan kesempatan kepada mahasiswa untuk menanyakan hal-hal yang kurang jelas.
6. Diberikannya jawaban jika ada pertanyaan yang diajukan peserta

3. TUJUAN,

1. Umum : Setelah mengikuti materi ini mahasiswa mampu melaksanakan pemeriksaan mikroskopis TB
2. Khusus :
 - a. Melakukan pembuatan sediaan sputum sesuai standar
 - b. Melakukan pembacaan sediaan sputum
 - c. Menghitung jumlah bakteri tahan asam dalam sputum dengan benar
 - d. Menginterpretasikan hasil perhitungan jumlah bakteri tahan asam dalam sputum

4. KOMPETENSI

Kompetensi yang ingin dicapai pada materi ini adalah

1. Mengetahui cara pembuatan sediaan sputum sesuai standar
2. Melakukan pembacaan sediaan mikroskopis bakteri tahan asam
3. Melaporkan hasil pemeriksaan mikroskopis bakteri tahan asam

2. PRAKTIKUM

a. MATERI,

Teknik pemeriksaan bakteri tahan asam atau BTA adalah mengumpulkan sputum atau sputum pasien yang diduga terinfeksi kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Pemeriksaan ini sangat mudah dilakukan dan tidak memakan waktu yang lama. Pemeriksaan BTA dilakukan dengan mengumpulkan 2 spesimen sputum atau sputum pasien yang dicurigai terinfeksi tuberkulosis dengan interval pengumpulan sputum antara 8 sampai 24 jam, atau untuk lebih memudahkan dengan menggunakan sistem Sewaktu-Pagi (SP) atau Pagi Sewaktu (PS) atau Sewaktu–Sewaktu (SS).

b. ALAT BAHAN,

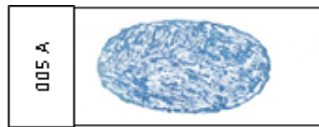
- Kaca kaca objek yang baru dan bersih, sebaiknya *frosted end slide*.
- Bambu/lidi/ tusuk gigi
- Tang atau penjepit
- Pensil 2B
- Lampu spritus/ Bunsen
- Pinset
- Wadah pembuangan lidi bekas berisi desinfektan
- Desinfektan (lisol 5%, Alkohol 70%, Hipoklorit 0,5%)

c. PROSEDUR

1. Pembuatan Preparat

- a. Ambil contoh uji sputum pada bagian yang purulen dengan lidi yang telah dipipihkan ujungnya dengan tang atau penjepit.
- b. Sebarkan diatas kaca sediaan dengan bentuk oval ukuran 2x3 kemudian ratakan dengan tusuk gigi membentuk spiral kecil- kecil.
- c. Keringkan pada suhu kamar

- d. Lakukan fiksasi dengan memegang kaca sediaan dengan pinset dan dilewatkan diatas api Bunsen yang berwarna biru 2-3 kali



Gambar 5 Hasil Pembuatan Preparat

2. Pewarnaan

Metode Ziehl Neelson

- a. Prinsip : Dinding sel *Mycobacterium* memiliki lapisan lilin (lipoidal) yang tebal, sehingga penetrasi zat pewarna sulit terjadi. Apabila zat pewarna terikat pada dinding sel, maka sangat sulit untuk menghapusnya kembali sekalipun dicuci dengan alkohol asam kuat.

b. Reagensia

1. Carbol Fuchsin 1% → ZN A
2. Asam alkohol 3% → ZN B
3. methylene blue 0,1% → ZN C

c. Peralatan

1. Rak pewarnaan
2. Pinset/ Penjepit kayu
3. Air mengalir/ botol semprot air
4. Lambu spritus/ sulut api
5. Rak pengering
6. Timer
7. Corong dan Kertas Saring.

d. Prosedur

1. Letakkan sediaan diatas rak dengan jarak 1 jari
2. Tuangkan Carbol Fuchsin 1% hingga menutupi seluruh permukaan sediaan
3. Panaskan sediaan dengan api sampai keluar uap (jangan sampai mendidih), dinginkan selama minimal 10 menit
4. Bilas sediaan secara perlahan dengan air mengalir, jangan menyiramkan atau menyembrotkan air tepat pada apusan
5. Buang sisa air pada sediaan
6. Tuangkan Asam alkohol 3% sampai tidak tampak warna merah luntur lagi

7. Bilas dengan air mengalir
8. Tuangkan 0.1% methylene blue hingga menutupi seluruh sediaan dan biarkan 1 Menit
9. Bilas dengan air mengalir
10. Keringkan sediaan pada rak pengering

Ada beberapa metode pemeriksaan BTA selain metode Ziehl Neelson yaitu ;

I. PENGECATAN BTA MENURUT KINYOUN GABBETT :

A. Pewarna yang digunakan

1. Kinyoun :

4 gram basic fuchsin 8 ml phenol liquid
20 ml alcohol 95%
100 ml aquadest

2. Gabbett :

1 gram methylen biru 20 ml asam sulfat p.a. 30 ml alcohol absolut 50 ml aquadest

B. Pelaksanaan pengecatan :

1. Genangi sediaan yang sudah difiksasi dengan cat kinyoun selama 3 menit.
2. Cuci dengan air mengalir sampai bersih.
3. Genangi dengan cat Gabbett selama 1 menit.
4. Cuci dengan air mengalir sampai bersih, keringkan.

C. Hasil pengecatan :

Bakteri tahan asam berwarna merah sedangkan bakteri yang tidak tahan asam berwarna biru.

D. Proses pengecatan :

Pengecatan dengan cat Kinyoun, semua bakteri berwarna merah. Masuknya cat fuchsin kedalam badan bakteri tahan asam dipengaruhi oleh phenol, alkohol dan tingginya kadar cat.

Pengecatan dengan cat Gabbett terjadi 2 proses, yaitu :

a). Pelarutan warna merah dari fuchsin, yang ada pada badan bakteri tidak tahan asam, menjadi pucat.

b). Pengecatan bakteri yang tidak tahan asam yang tadinya pucat menjadi biru.

Bakteri yang tahan asam tidak terpengaruh oleh cat Gabbett sehingga tetap berwarna merah.

II. PENGECATAN BTA DENGAN FLUOROCROM :

A. Cat yang digunakan :

1. Auramine phenol :

100 ml larutan phenol 3%, hangatkan.

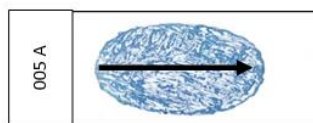
0,3 gram auramine 0.

Campurkan dikocok baik-baik sampai larut, kemudian disaring.

2. Asam alkohol :
 - 1 ml asam chlorida 37%
 - 99 ml alkohol absolut.
 3. Kalium permanganat :
 - 0,1 gram kalium permanganat
 - 100 ml aquadest.
- B. Pelaksanaan pengecatan :
1. Genangi sediaan yang sudah difiksasi, dengan auramine phenol selama 10 menit.
 2. Cuci dengan air mengalir.
 3. Genangi dengan asam alkohol selama 5 menit.
 4. Cuci dengan air mengalir
 5. Genangi dengan kalium permanganat selama 30 detik.
 6. Cuci dengan air mengalir, lalu keringkan.
- C. Hasil pengecatan :
- Sediaan yang sudah dicat, dan sudah kering, dilihat dengan mikroskop fluorescent pembesaran objektif 10 X kemudian 20/40 X.
- Bakteri tahan asam berwarna kuning berpendur (berfluoresen), bakteri tidak tahan asam tidak kelihatan.
- D. Proses pengecatan :
- Pada pengecatan dengan *auramine phenol*, semua bakteri akan berwarna kuning oleh auramine.
- Pelarutan dengan asam alkohol, BTA tidak melepaskan warna kuning sedangkan BTBA akan melepaskan warna kuning auramine, sehingga menjadi pucat.

Pengecatan dengan kalium permanganat tidak mewarnai BTA ataupun BTBA tetapi memberi warna latar belakang sediaan sehingga warna kuning auramine akan lebih jelas.

1. Pembacaan
 - a. Gunakan lensa objektif 10X untuk menentukan focus
 - b. Teteskan minyak imersi 1 tetes pada sediaan
 - c. Gunakan lensa objektif 100X untuk melakukan pemeriksaan
 - d. Pembacaan disepanjang garis horisontal terpanjang dari ujung kiri ke ujung kanan atau sebaliknya. Dengan demikian akan dibaca minimal 100 lapang pandang.



Gambar 6 cara Pembacaan Preparat ▼

2. Interpretasi Hasil

Hasil pembacaan dilaporkan berdasarkan skala IUALTD (International Union Against Tuberculosis and Lung Disease).

- Negatif : Tidak ditemukan BTA minimal dalam 100 lapang pandang
- Scanty : 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang (Tuliskan jml BTA yang ditemukan)
- 1+ : 10 – 99 BTA dalam 100 lapang pandang
- 2+ : 1 – 10 BTA setiap 1 lapang pandang (periksa minimal 50 lapang pandang)
- 3+ : ≥ 10 BTA dalam 1 lapang pandang (periksa minimal 20 lapang pandang)

3. Kualitas Sediaan Sputum

Ada 6 syarat kualitas sediaan yang baik yaitu sebagai berikut :

a. Kualitas spesimen (sputum)

Secara makroskopis sputum terlihat berwarna kuning kehijauan dan mukopurulen. Namun secara mikroskopis dinilai setelah pewarnaan ditemukan sel lekosit PMN ≥ 25 sel per LP pada perbesaran 10 X 10. Adanya Makrofag pada perbesaran 10 X 100

b. Ukuran sediaan sputum

Ukuran sediaan sputum yang baik berbentuk oval berukuran panjang 3 cm dan lebar 2 cm. Terletak dibagian tengah kaca objek. Toleransi ukuran sebesar ± 1 mm dari ukuran 2 X 3 cm.

c. Ketebalan

Penilaian ketebalan dapat dilakukan sebelum pewarnaan dan pada saat pemeriksaan mikroskopis. Penilaian ketebalan sebelum pewarnaan dilakukan dengan meletakkan sediaan sekitar 4cm di atas kertas. Sediaan yang baik tulisan masih bisa terbaca tetapi samar. Penilaian ketebalan dapat juga dilakukan setelah sediaan sputum diwarnai. Pada sediaan yang baik sel leukosit tidak tampak bertumpuk (*one layer cells*)

d. Kerataan

Penilaian kerataan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis dengan tidak tampak adanya daerah yang kosong. Sediaan yang baik pada setiap lapang

pandang akan terlihat apusan sputum yang tersebar rata secara mikroskopis. Kerataan Sediaan yang baik adalah sediaan yang tidak terlihat daerah kosong.

e. Pewarnaan

Pewarnaan yang baik akan menghasilkan sediaan yang tampak jelas kontras antara BTA dan warna latar, bersih dan tidak tampak sisa zat warna.

f. Kebersihan

Penilaian kebersihan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Sediaan yang baik terlihat bersih, tidak tampak sisa zat warna, endapan kristal. Sediaan yang kurang bersih akan mengganggu pembacaan secara mikroskopis

4. Penutup

Pemeriksaan mikroskopis Bakteri Tahan Asam (BTA) untuk diagnosa penyakit TB diawali dengan pengumpulan sputum yang dilakukan minimal 2 sputum yang diambil pada waktu tertentu seperti SP, PS atau SS. Tempat pengambilan sputum dilakukan di tempat khusus. Metode pewarnaan ada beberapa namun yang direkomendasikan adalah metode Ziehl Neelsen. Ada 6 syarat kualitas sediaan yang baik yaitu Kualitas specimen (sputum), ukuran, ketebalan, kerataan, pewarnaan dan kebersihan.

5. Evaluasi

1. Proses pewarnaan BTA untuk pemeriksaan mikroskopis BTA metode Ziehl Neelsen yang benar adalah

- a) Safranin -> Karbol fuchsin -> Air -> Alkohol asam
- b) Karbol fuchsin -> Air -> Alkohol asam -> Methylene blue
- c) Methylene blue -> Alkohol asam -> Karbol fuchsin -> Air
- d) Karbol fuchsin -> Air -> Safranin -> Alkohol asam

2. Seorang pasien menderita batuk persisten dan diduga terkena TBC. Apa jenis sampel yang biasanya diambil untuk pemeriksaan mikroskopis?

- a. Darah
- b. Urine
- c. Serum
- d. Sputum

3. Apa nama struktur khusus pada bakteri tahan asam yang membantu melindungi bakteri dari asam alkohol resisten?

- a. Kapsul
- b. Flagela
- c. Spora
- d. Asam mikolat

4. Pemeriksaan mikroskopis TB dimulai pada saat pengumpulan spesimen sputum yang dilakukan dalam waktu 1 atau 2 hari yaitu untuk suspek yang berada jauh dari fasyankes waktu pengambilan sampel yang paling memungkinkan adalah pada waktu

- a. Sewaktu - Pagi (SP), b. Pagi – Sewaktu (PS) atau
- c. Pagi- sore – malam d. Sewaktu - Sewaktu (SS) dengan jarak 1 jam
- a. Apa nama zat pewarna yang digunakan dalam pewarnaan asam-alkohol resisten untuk pemeriksaan mikroskopis Bakteri Tahan Asam (BTA) ?
 - a) Kristal violet b) Safranin
 - c) Karbol fuchsin d) Methylene blue

6. Kunci jawaban

- 1. B 4. D
- 2. D 5. C
- 3. D

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS BTA

Identitas Sampel :

Hari / Tanggal :

1. Penilaian kualitas sputum :
 - Warna :
 - Volume :
 - Kekentalan :
 - Mikroskopis : Jumlah leosit/LP :
 - Partikel debu :

2. Penilaian Kualitas Sediaan :

- Kualitas Contoh Uji :
- Ukuran sediaan :
- Ketebalan :
- Kerataan :
- Pewarnaan :
- Kebersihan :

3. Table Hasil Perhitungan Bakteri Tahan Asam

4. Kesimpulan :
Pada sampel no : Hasil pemeriksaan :

Dosen Pengampu

Praktikan,

(.....)

2. (.....)

2. *Mycobacterium leprae*

A. PENDAHULUAN

Penyakit kusta merupakan penyakit menular menahun yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium leprae* sejenis bakteri yang mirip dengan penyebab penyakit TB. *Mycobacterium leprae* terutama menyerang saraf tepi, kulit dan organ tubuh lain kecuali susunan saraf pusat. Setelah masuk ke dalam tubuh, bakteri tumbuh sangat lambat dan biasanya mengenai saraf tepi (saraf yang terletak dekat dengan permukaan tubuh). Penyakit kusta dapat berdampak pada organ tubuh lainnya, seperti kulit dan mata. *Mycobacterium leprae* untuk pertama kali ditemukan oleh G.A. Hansen pada tahun 1873. Waktu pembelahan sangat lama yaitu 14 – 21 hari. Saat berada diluar tubuh manusia (dalam kondisi tropis) kuman kusta dapat bertahan sampai 9 hari.

Mycobacterium leprae adalah bakteri patogen intraseluler, pleomorfik, non-spora, non-motil, tahan asam. Ini adalah basil aerobik (bakteri berbentuk batang) dengan sisi paralel dan ujung bulat, dikelilingi oleh lapisan lilin khas asam mikolat yang unik untuk mikobakteri. Pemeriksaan *skin smear* atau hapusan kulit banyak berguna untuk mempercepat penegakan diagnosis karena sekitar 7-10% penderita yang datang dengan lesi Kusta kering (PB : Pausi Basiler / kuman sedikit) merupakan kasus kusta basah dini (MB : Multi Basiler / kuman banyak).

Pada pewarnaan Gram bakteri *Mycobacterium leprae* termasuk kedalam golongan bakteri Gram positif. Bakteri *Mycobacterium leprae* agak susah diwarnai secara tradisional dengan karbol fuchsin dalam pewarnaan *Ziehl-Neelsen*. Karena bakteri *Mycobacterium leprae* kurang tahan asam dibandingkan *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), metode pewarnaan *Fite-Faraco*, yang memiliki konsentrasi asam lebih rendah lebih baik untuk digunakan. Namun dari ukuran dan bentuk, sangat mirip dengan MTB. Bakteri ini ditemukan pada lesi granulomatosa dan terutama banyak terdapat pada nodul. Bakteri ini sering terdapat dalam jumlah besar pada lesi kusta lepromatosa dan biasanya dikelompokkan menjadi palisade. Pemeriksaan dengan mikroskop optik sel inang, *Mycobacterium leprae* dapat ditemukan sendiri-sendiri atau berkelompok yang disebut "globi" bentuk batangnya bisa lurus atau sedikit melengkung, dengan panjang berkisar antara 1–8 µm dan diameter 0,3 µm. Bakteri ini tumbuh paling baik pada suhu 27 hingga 30 °C, menjadikan kulit, mukosa hidung, dan saraf tepi sebagai target utama infeksi *Mycobacterium leprae*.

Masa inkubasi *Mycobacterium leprae* berkisar antara 9 bulan hingga 20 tahun. Bakteri ini bereplikasi secara intraseluler di dalam histiosit dan sel saraf dan memiliki dua bentuk. Salah satu bentuknya adalah "tuberkuloid", yang menginduksi respons yang dimediasi sel yang membatasi pertumbuhannya, dan memiliki sedikit basil yang dapat dideteksi (*Pauci Bacillary*). Melalui bentuk ini, *Mycobacterium leprae* berkembang biak di tempat masuknya, biasanya di kulit, menyerang dan menjajah sel Schwann. Bakteri tersebut kemudian menginduksi limfosit T-helper, sel epiteloid, dan infiltrasi sel raksasa pada kulit, menyebabkan individu yang terinfeksi menunjukkan bercak besar yang rata dengan tepi merah yang meninggi dan menonjol pada kulit mereka. Bercak ini memiliki bagian tengah yang kering, pucat, tidak berbulu, disertai hilangnya sensasi pada kulit. Hilangnya sensasi dapat terjadi akibat invasi saraf sensorik perifer. Makula pada tempat masuknya kulit dan hilangnya sensasi nyeri merupakan indikasi klinis utama bahwa seseorang mengidap penyakit kusta tuberkuloid.

Bentuk kusta yang kedua adalah bentuk "lepromatosa", di mana mikroba berkembang biak di dalam sel makrofag tempat masuknya, dan memiliki banyak basil yang dapat dideteksi (Multi basiler). Mereka juga tumbuh di dalam jaringan epitel wajah dan lobus telinga. Sel T penekan yang diinduksi sangat banyak, namun sel epiteloid dan sel raksasa jarang atau bahkan tidak ada. Dengan gangguan imunitas seluler, sejumlah besar *Mycobacterium leprae* muncul di dalam sel makrofag dan pasien yang terinfeksi mengembangkan papula di tempat masuknya, ditandai dengan lipatan kulit. Penghancuran saraf kulit secara bertahap menyebabkan apa yang disebut sebagai "wajah singa klasik" (*classic lion face*). Penetrasi bakteri ini secara luas dapat menyebabkan kerusakan tubuh yang parah; misalnya hilangnya tulang, jari tangan, dan kaki.

Klasifikasi

Phylum	: Actinomycetota
Class	: Actinomycetia
Ordo	: Mycobacteriales
Family	: Mycobacteriaceae
Genus	: <i>Mycobacterium</i>
Spesies	: <i>Mycobacterium leprae</i>

Morfologi *Mycobacterium leprae*

Pada Pemeriksaan apusan kulit secara mikroskopis setelah dilakukan Pewarnaan BTA maka morfologi bakteri *Mycobacterium leprae* dapat digolongkan menjadi :

1. Bentuk utuh (solid) - Dinding sel tdk terputus - Mengambil zat warna secara merata
2. Bentuk pecah-pecah (fragmented) -Dinding sel terputus mungkin sebagian atau seluruhnya -Pengambilan zat warna tidak merata
3. Bentuk granuler (granulated) - Kelihatan seperti titik titik
4. Bentuk globus -Kelompok kuman solid,fragmented maupun granuler – Kelompok kecil 40-60 kuman, Kelompok besar 200-300 kuman
5. Bentuk Clumps - Kelompok granuler membentuk pulau -pulau tersendiri (lebih dari 500 kuman)

B. PEMERIKSAAN

a. Bahan Pemeriksaan

Sampel yang paling baik untuk diperiksa adalah jaringan kulit dari cuping telinga kanan dan kiri, serta bercak yang paling aktif pada kulit yang berwarna merah/plak yang mati rasa, umumnya dibagian tepi lesi (tidak boleh di wajah).

b. Persiapan alat & Reagensia

- APD Lengkap
- Lampu Spirtus
- Kaca Objek
- Pisau Bisturi
- Mikroskop
- Reagensia Pewarnaan BTA (contoh Ziehl Nelsen)

c. Prosedur

SEDIAAN KUSTA

Cara Pengambilan Sampel

- Pakai sarung tangan , lalu siapkan objek glass yang baru
- Beri etiket di bagian bawah object glass
- Bersihkan lokasi telinga atau kulit dengan kapas alcohol, biarkan mengering.
- Jepit telinga atau kulit dengan erat dan kuat menggunakan jempol dan telunjuk (supaya darah tidak ikut keluar)
- Buatlah insisi (irisan) pada kulit, panjang 5 mm & dalam 2 mm

- Putar pisau skalpel 90 °c dan Keroklah irisan tersebut 1 / 2 kali
- Irisan atau insisi dibuat pulasan pada object glass yang sudah disiapkan sehingga diperoleh smear yang tidak terlalu tebal dan tidak terlalu tipis, dengan Ø 1-1,5 cm.
- Biarkan kering dengan sendirinya diudara atau diatas api dengan teknik khusus.
- Setelah kering difixatie dengan melewati pada nyala api spiritus 2 - 3 kali,
- Lanjutkan dengan pengecatan bakteri tahan asam menurut Ziehl Nelsen atau Kinyoun Gahbet, seperti yang dilakukan pada TBC.

Pembacaan:

Dilihat ada tidaknya BTA, menggunakan Mikroskop dengan total pembesaran 1000X menggunakan minyak imersi. BTA berwarna merah dengan berbagai bentuk:

1. Solid : Batang utuh
2. Fragmented: batang purus-putus.
3. Granuler : batang terbagi menjadi titik-titik.
4. Globus : batang berkelompok.
5. Clumps : batang berkelompok dalam jumlah banyak.

Penilaian:

Negatif : Tidak ditemukan BTA dalam 100 LP.

Positif 1 : ditemukan 1 - 10 BTA dalam 100 LP.

Positif 2. : ditemukan 1 - 10 BTA dalam 10 LP.

Positif 3 : ditemukan rata-rata 1 - 10 BTA dalam 1 LP.

Positif 4 : ditemukan lebih dari 10 BTA per 1 LP..

Positif 5 :ditemukan lebih dari-100 BTA per 1 LP.

Positif 6 :ditemukan lebih dari 1000 BTA per LP.

BI dan MI :

BI = Bacteriological Index yaitu angka rata-rata yang diperoleh dari jumlah nilai positif dibagi jumlah tempat sampel diambil.

MI = Morphological Index yaitu perbandingan jumlah bakteri tahan asam yang uruh berwarna merah dengan jumlah bakteri tahan asam semua

(Granulated/fragmented ditambah yang tidak utuh ditambah yang tidak utuh), dinyatakan dalam %.

Tabel 1 Contoh perhitungan BI dan MI :

No	Lokasi pengambilan sampel	Kepadatan Ridley	Solid (Utuh)	Fragmented / Granulated	Keterangan
1.	Daun telinga kiri	5 +	30	70	
2.	Daun telinga kanan	5 +	25	75	
3.	Jari tangan kiri	4 +	20	80	
4.	Jari tangan kanan	4 +	26	74	
5.	Bercak tersangka	5 +	35	65	
Jumlah		23 +	136	364	

$$BI = 23:5 = 4,6$$

$$MI = \frac{136}{136+364} \times 100\% = 27,2\% \quad \text{atau. } 136:5 = 27,2$$

C. EVALUASI

- Penyakit kusta dapat menyebabkan masalah yang kompleks, terutama dari segi medis seperti cacat fisik apa nama bakteri penyebab penyakit Kusta?
 - Mycobacterium leprae*
 - Mycobacterium tuberculosis*
 - Mycobacterium bovis*
 - Mycobacterium hansen*
 - Mycobacterium kusta*
- Spesiemen yang digunakan untuk pemeriksaan penyakit kusta adalah
 - Sputum
 - Swab Luka
 - Kerokan Kulit
 - Darah atau serum
 - Faeses
- Metode pemeriksaan apa yang biasanya digunakan untuk mendeteksi *Mycobacterium leprae* dalam sampel biopsi kulit?
 - ELISA
 - PCR
 - Kultur bakteri
 - Rontgen

c. Mikroskopi BTA

4. Makula pada tempat masuknya kulit dan hilangnya sensasi nyeri merupakan indikasi klinis utama bahwa seseorang mengidap penyakit kusta tuberkuloid. Apa gejala utama dari penyakit Kusta?
- a. Hilang selera makan
 - b. Jari tangan menjadi bengkok
 - c. Luka tidak mau sembuh
 - d. Bercak mati rasa
 - e. Muka menjadi hitam
5. Sampel yang paling baik untuk pemeriksaan *Mycobacterium leprae* adalah jaringan kulit, namun ada tempat yang kemungkinan ada bakterinya yang perlu dihindari untuk pengambilan sampel yaitu pada.....
- a. Cuping telinga kanan dan kiri
 - b. Bercak yang paling aktif pada kulit
 - c. Mukosa hidung
 - d. Bercak di lengan
 - e. Bercak di punggung

D. PENUTUP

Penyakit kusta disebabkan oleh *Mycobacterium leprae* yang merupakan bakteri tahan asam. Bakteri kusta menyerang kulit dan syaraf kecuali susunan syaraf pusat. Sampel yang digunakan dalam pemeriksaan *Mycobacterium leprae* kerokan kulit. Tempat pengambilan sampel cuping telinga kanan dan kiri serta pada kulit yang terlihat aktif terinfeksi bakteri *Mycobacterium leprae* kecuali dimuka. Pemeriksaan Laboratorium untuk penyakit kustadapat dilakukan dengan cara :

- a. Mikrobiologi : Skin Smear
- b. Serologi : MLPA, Anti PGL1 (Phenolik Glicolipid 1)
- c. PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

KUNCI JAWABAN

- 1. A 4. D
- 2. C 5. C
- 3. C

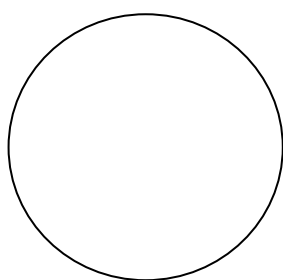
JURNAL PRAKTIKUM

PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS *Mycobacterium leprae*

Nama :
 Nim :
 Identitas Sampel :

1. Melakukan pengecatan BTA dari sampel

Hasil:



Bentuk :
 Susunan :
 Warna Sel :
 Cat :
 Reaksi Cat :
 Latar Belakang :

2. Hasil pembacaan.

No	Lokasi pengambilan sampel	Kepadatan Ridley	Solid (Utuh)	Fragmented/Granulated	Keterangan
1.	Daun telinga kiri				
2.	Daun telinga kanan				
3.	Jari tangan kiri				
4.	Jari tangan kanan				
5.	Bercak tersangka				
JUMLAH					

IV. Kesimpulan

Pada sampel no....

1. Bakteri Indeks (BI) :
2. Morphological Index (MI) :

Pengampu

Praktikan,

(.....) (.....)

BAB II

BAKTERI GRAM POSITIF

1. *Clostridium* / *Bacillus*

A. PENDAHULUAN

Bacillus merupakan bakteri berbentuk batang besar aerob, gram positif, berderet membentuk rantai. Merupakan organisme saprofit yang dapat ditemui pada tanah, air, dan udara. *Bacillus sp* memiliki sel berukuran 1 x 3-4 µm, ujung persegi tersusun dalam rantai panjang, memiliki spora central dan non motil.

Bacillus anthracis memiliki koloni bulat dengan tampilan *cut glass* dengan pancaran cahaya. Ditemukan hemolysis pada *Bacillus cereus*, sedangkan pada *Bacillus anthracis* tidak menghemolisa darah, memiliki gelatinase. Spora resisten terhadap perubahan lingkungan, tahan panas, kering dan desinfektan kimia dan dapat menetap selama bertahun tahun di tanah.

Bacillus cereus menyebabkan keracunan makanan, ditemukan mengkontaminasi produk daging dan nasi goreng. *Bacillus cereus* menghasilkan toksin yang menyebabkan intoksikasi, jarang menimbulkan infeksi yang ditularkan melalui makanan. Gejala keracunan makanan adalah nausea, kram perut, muntah, diare yang dapat sembuh sendiri dalam waktu 24 jam.

Selain keracunan makanan *Bacillus cereus* dapat menyebabkan infeksi mata, keratitis, endoftalmitis, panoftalmitis. *Bacillus cereus* masuk ke mata melalui benda asing.

B. PEMERIKSAAN

Pra analitik

1. Siapkan bahan dan alat sebagai berikut:
 - a. APD Lengkap
 - b. Pembakar Spirtus
 - c. Kaca obyek
 - d. Ose Bulat
 - e. Mikroskop
 - f. Inkubator

- g. Larutan Pewarna Gram
- h. Reagen H₂O₂
- i. Media *Bacillus cereus* Agar
- j. Reagen Oksidase
- k. Media uji biokimia

2. Siapkan sampel dari pus, darah, sputum, sisa makanan

Analitik

Lakukan prosedur pemeriksaan:

Hari 1

1. Lakukan penyuburan dari spesimen.
2. Inkubasi 37°C selama 24 jam

Hari kedua

3. Lakukan pengecatan gram dari BHI
4. Lakukan goresan pada *Bacillus Cereus* Agar Base dari media BHI
5. Inkubasi 37°C selama 24 jam

Hari ke-3

1. Lakukan pengamatan koloni yang tumbuh pada media *Bacillus cereus* agar base

Interpretasi hasil:

Bacillus cereus = koloni berwarna merah muda dengan halo pada sekitar koloni

Bacillus subtilis = koloni berwarna kuning dengan halo pada sekitar koloni

2. Lakukan uji oksidase dan uji katalase
3. Lakukan penanaman pada media uji biokimia (SIM, Ornitin, TSIA, glukosa, laktosa, gelatin, citrate, urea)
4. Inkubasi 37°C selama 24 jam

Hari ke 4

5. Lakukan pembacaan hasil uji biokimia

Hasil uji biokimia *Bacillus sp*

SIM			UREA	Citrata	M R	Gl u	La k	Gelati n	Ornitin
H ₂ S	Indol	Motil							
-	+/-	+	-	+/-	+	+	+	+	+/-

Pasca analitik

1. Dilakukan kesimpulan hasil pemeriksaan
2. Dilakukan pembuatan laporan
3. Alat dan bahan yang telah digunakan dirapikan Kembali

C. EVALUASI

1. Tes : Jelaskan perbedaan koloni *Bacillus cereus* dengan *Bacillus subtilis*
2. Psikomotor = lembar observasi psikomotor

Diskripsi	1	2	3	4
Hasil Pengecatan	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat
Hasil Identifikasi	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil hemolisa 2. Pembacaan optochin/basitracin tes 3. Pembacaan hasil katalase benar 4. Menyimpulkan benar	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil hemolisa 2. Pembacaan optochin/basitracin tes 3. Pembacaan hasil katalase benar 4. Menyimpulkan benar	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil hemolisa 2. Pembacaan optochin/basitracin tes 3. Pembacaan hasil katalase benar 4. Menyimpulkan benar	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil hemolisa 2. Pembacaan optochin/basitracin tes 3. Pembacaan hasil katalase benar 4. Menyimpulkan benar

3. Attitude = lembar observasi afektif

Diskripsi	1	2	3	4
Berperilaku Profesional	Peserta tidak melakukan tindakan sama sekali	Peserta melakukan 1-2 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap	Peserta melakukan 3-4 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara	Peserta melakukan 5 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara

		2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik
--	--	---	--	--

JURNAL PRAKTIKUM
PEMERIKSAAN *BACILLUS SP*

Identitas Sampel :

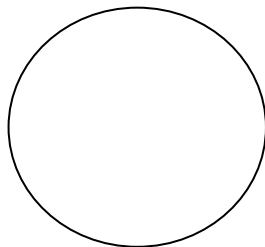
Hari ke-1 Tanggal

1. Dilakukan penyuburan pada media BHI
2. Inkubasikan 37°C selama 24 jam

Hari ke-2 Tanggal

3. Dilakukan pengecatan Gram dari sampel

Hasil:



Bentuk	:
Susunan	:
Warna Sel	:
Cat	:
Reaksi Cat	:
Latar Belakang	:

4. Diinokulasikan ke media *Bacillus cereus* Agar Base dengan ose bulat steril secara goresan, aseptis.
5. Diinkubasi 37°C selama 24 jam.

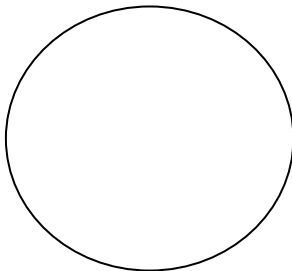
Hari ke-III Tanggal

6. Dilakukan pengamatan morfologi koloni pada media *Bacillus cereus* Agar Base

Bentuk	:
Ukuran	:
Warna koloni	:
Hemolisa	:
Ciri khas	:

7. Dilakukan pengecatan Gram

Hasil:



Bentuk	:
Susunan	:
Warna Sel	:
Cat	:
Reaksi Cat	:
Latar Belakang	:

8. Dilakukan tes katalase dan oksidase dari koloni pada media *Bacillus cereus* Agar Base

Hasil:

9. Diinokulasikan ke media Uji biokimia

10. Diinkubasi 37°C selama 24 jam.

Hari ke-III Tanggal

11. Dilakukan pengamatan pada media uji biokimia

Hasil

SIM			UREA	Citrat	M R	Gl u	La k	Gelatin
H ₂ S	Indol	Motil						

IV. Kesimpulan

Pada sampel no..... yang diperiksa ditemukan bakteri.....

Pengampu

Praktikan,

(.....)

(.....)

2. *Staphylococcus*

A. PENDAHULUAN

1. Karakteristik

Staphylococcus merupakan bakteri gram positif berbentuk coccus dengan susunan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri ini dapat memfermentasi karbohidrat, dan menghasilkan berbagai macam pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua. Beberapa jenis *Staphylococcus* merupakan flora normal pada kulit dan membrane mukosa manusia. *Staphylococcus* pathogen dapat menghemolisa darah, menyebabkan koagulasi plasma, menghasilkan toksin dan enzim ekstraseluler. Terkenal dengan 3 spesies yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*. (Jawet, dkk)

Staphylococcus tumbuh optimal pada kondisi aerob dengan suhu 37⁰ C, pembentukan pigmen paling baik terjadi pada suhu ruang yaitu 20 -25⁰C. Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus timbul dan mengkilat (Jawetz). *S. aureus* dapat membentuk pigmen kuning emas, *S. epidermidis* membentuk pigmen putih dan *Staphylococcus saprophyticus* membentuk pigmen kuning (Kurniawan,2014)

Staphylococcus dapat memfermentasi karbohidrat secara lambat, menghasilkan asam laktat tanpa gas. *Staphylococcus* resisten terhadap pengeringan, pemanasan dan NaCl 9%, namun dapat dihambur oleh heksaklorofen 3%. *Staphylococcus* menghasilkan katalase yang mengubah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen. *Staphylococcus aureus* menghasilkan koagulase. *Staphylococcus* dapat menghasilkan eksotoksin, leukosidin, toksin eksfoliatif, toksin sindrom syok toksisk, enterotoksin. (Jawetz).

2. Spesies *Staphylococcus*

a. *Staphylococcus aureus*

Merupakan flora normal pada tubuh manusia dan dapat ditemukan di kulit, saluran nafas, saluran pencernaan, membrane mukosa. Bakteri ini merupakan gram + berbentuk bulat dengan ukuran diameter sel 0.7 – 1,2 µm, tersusun menyerupai buah anggur, anaerob fakultatif, tidak membentuk spora dan flagel. *Staphylococcus* memproduksi pigmen lipokrom berwarna kuning keemasan. Menghasilkan koagulase dan katalase positif, memfermentasi glukosa.

Pada manusia *Staphylococcus aureus* menyebabkan lesi permukaan kulit berupa lepuhan dan furunkulosis. Abses setempat seperti jerawat merupakan infeksi kulit di sekitar folikel rambut, kelenjar sebacea. *Staphylococcus* juga menyebabkan kerusakan jaringan epitel mammae, keracunan makanan karena memiliki enterotoksin dengan gejala demam, muntah, mual, diare, myalgia, riam dan hipotensi (Kuswiyanto)

b. Staphylococcus epidermidis

Sering disebut sebagai *Staphylococcus albus*, merupakan flora normal pada kulit manusia. Sel bakteri berukuran sekitar 0.5 – 1.5 μm . Koloni berwarna putih, bulat, sirkuler, mengkilat dan translucent opak dengan ukuran 1 – 2 mm. *Staphylococcus epidermidis* bersifat fakultatif aerob, koagulase negative, katalase positif, beberapa dapat menghemolisis darah, sensitive terhadap novobiosin. *Staphylococcus epidermidis* dapat membentuk biofilm pada alat medis rumah sakit dan menyebabkan infeksi nosocomial, menghasilkan lender glikokaliks yang bertindak sebagai kapsul sehingga bakteri ini resisten terhadap fagositosis dan antibiotic (Kuswiyanto)

c. Staphylococcus saprophyticus

Staphylococcus saprophyticus merupakan bakteri penyebab infeksi pada system urinary wanita. Memiliki pigmen berwarna kuning, merupakan flora normal pada vagina. *Staphylococcus saprophyticus* tidak dapat menghemolisa darah, tidak memiliki enzim koagulase, tidak dapat memfementasi glukosa dan mannitol, resisten terhadap novobiosin (Kuswiyanto)

B. PEMERIKSAAN

Pra Analitik

1. Persiapan alat, media
 - a. APD Lengkap
 - b. Pembakar Spirtus
 - c. Gelas obyek
 - d. Ohse Bulat

- e. Mikroskop
- f. Inkubator
- g. Larutan Pewarna Gram
- h. Plasma Sitrat
- i. Reagen H₂O₂
- j. Media BAP
- k. Media NA miring
- l. Media MSA
- m. NaCl 0.85%

Sampel : swab permukaan pus, darah, aspirat trakea, cairan spinal.

Analitik

Prosedur Kerja

Hari I

1. Lakukan pengecatan Gram dari sampel
 - a. Preparat yang sudah difiksasi digenangi dengan Gram A selama 1-3 menit, buang sisa cat, lakukan pembilasan dengan air mengalir
 - b. Preparat digenangi dengan Gram B selama 1 menit, bilas dengan air mengalir
 - c. Lakukan pelunturan dengan Gram C selama 30 detik sampai seluruh cat luntur, bilas dengan air mengalir
 - d. Genangi dengan Gram D selama 1 menit, bilas dengan air mengalir
 - e. Preparat yang sudah dilakukan pengecatan, dikering anginkan, periksa menggunakan mikroskop dan emersi oil perbesaran 1000X
2. Inokulasikan ke media BAP dengan ose bulat steril secara goresan, aseptis.
3. Inkubasi 37° C selama 24 jam.

Hari II

1. Lakukan pengamatan morfologi koloni pada media BAP
2. Lakukan pengecatan gram dari media BAP
3. Lakukan tes katalase dari koloni pada media BAP
4. Buat suspensi bakteri dengan NaCl 0.85%
5. Tambahkan 1 tetes H₂O₂ 3%
6. Lakukan pengamatan hasil

Interpretasi hasil :

- + Uji dinyatakan positif apabila terbentuk gelembung gas
 - Uji dinyatakan negatif tidak terbentuk gelembung gas
4. Inokulasikan ke media NA miring dan media MSA
 5. Inkubasi 37°C selama 24 jam

Hari III

1. Lakukan pengamatan warna pigmen pada media NA Miring
2. Lakukan pengamatan fermentasi pada media MSA

Interpretasi Hasil

- (+) Uji dinyatakan positif apabila terbentuk media warna kuning
 - (-) Uji dinyatakan negatif apabila terbentuk koloni media merah
3. Lakukan pengecatan Gram dari media NA Miring
 4. Lakukan tes koagulase plasma citrat dari koloni pada media NA Miring
 - a. Buat suspensi bakteri dengan NaCl 0.85%
 - b. Tambahkan 1 tetes plasma citrate
 - c. Homogenkan dengan menggunakan ose
 - d. Lakukan pengamatan hasil

Interpretasi hasil :

- + Uji dinyatakan positif apabila terbentuk aglutinasi
- Uji dinyatakan negatif apabila tidak terbentuk aglutinasi

Pasca Analitik

Kegiatan pada tahap ini adalah:

3. Hasil praktikum dibuat kesimpulan
4. Hasil praktikum dibuat laporan identifikasi
5. Alat dan bahan yang sudah selesai dirapikan kembali

C. EVALUASI

1. Tes Jelaskan perbedaan *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus* dari
 - a. Warna pigmen
 - b. Hemolisa
 - c. Peragian mannito;
 - d. Test Novobiosin

2. Psikomotor = lembar observasi psikomotor

Diskripsi	1	2	3	4
Hasil Pengecatan	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat
Hasil Identifikasi	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil pigmen benar 2. Pembacaan MSA benar 3. Pembacaan hasil koagulase benar 4. Menyimpulkan benar sampai spesies	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil pigmen benar 2. Pembacaan MSA benar 3. Pembacaan hasil koagulase benar 4. Menyimpulkan benar sampai spesies	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil pigmen benar 2. Pembacaan MSA benar 3. Pembacaan hasil koagulase benar 4. Menyimpulkan benar sampai spesies	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil pigmen benar 2. Pembacaan MSA benar 3. Pembacaan hasil koagulase benar 4. Menyimpulkan benar sampai spesies

3. Attitude = lembar observasi afektif

Diskripsi	1	2	3	4
Berperilaku Profesional	Peserta tidak melakukan tindakan sama sekali	Peserta melakukan 1-2 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	Peserta melakukan 3-4 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	Peserta melakukan 5 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik

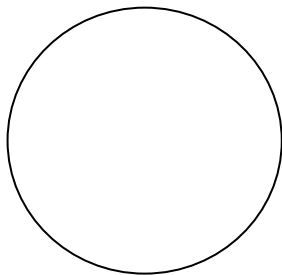
JURNAL PRAKTIKUM
PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI *STAPHYLOCOCCUS SP*

Identitas Sampel :

Hari I Tanggal

1. Dilakukan penyuburan ke media KPD
2. Dilakukan pengecatan Gram dari sampel

Hasil:



Bentuk	:
Susunan	:
Warna Sel	:
Cat	:
Reaksi Cat	:
Latar Belakang	:

3. Diinokulasikan ke media BAP dengan ohse bulat steril secara goresan, aseptis.
4. Diinkubasi 37°C selama 24 jam.

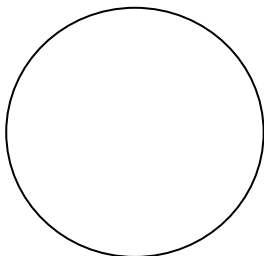
Hari II Tanggal

5. Dilakukan pengamatan morfologi koloni pada media BAP

Bentuk	:
Ukuran	:
Warna koloni	:
Hemolisa	:
Ciri khas	:

6. Dilakukan pengecatan Gram

Hasil:



Bentuk	:
Susunan	:
Warna Sel	:
Cat	:
Reaksi Cat	:
Latar Belakang	:

7. Dilakukan tes katalase dari koloni pada media BAP

Hasil:

8. Diinokulasikan ke media NA miring dan media MSA
9. Diinkubasi 37°C selama 24 jam

Hari III Tanggal

10. Dilakukan pengamatan koloni pada media NA Miring

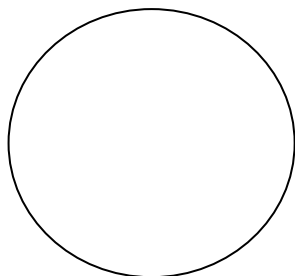
Warna pigmen:

11. Dilakukan pengamatan hasil fermentasi pada media MSA

Hasil:

12. Dilakukan pengecatan Gram dari media NA Miring

Hasil:



Bentuk :
Susunan :
Warna Sel :
Cat :
Reaksi Cat :
Latar Belakang:

13. Dilakukan tes koagulase plasma citrat dari koloni pada media NA Miring

Hasil:

IV. Kesimpulan

Pada sampel no....yang diperiksa ditemukan bakteri.....

Pengampu

Praktikan,

(.....)

(.....)

3. *Streptococcus*

A. PENDAHULUAN

1. Karakteristik

Streptococcus adalah bakteri gram positif berbentuk coccus dengan susunan berpasangan atau rantai selama pertumbuhannya. Beberapa *Streptococcus* merupakan flora normal, dan sebagian menyebabkan infeksi penyakit pada manusia. Klasifikasi *Streptococcus* ke dalam beberapa kategori besar didasarkan serangkaian observasi yang telah dilakukan terdiri dari;

- a. Morfologi koloni dan reaksi hemolitik pada agar darah
- b. Spesifitas serologi zat yang spesifik untuk grup dinding sel dan antigen dinding sel atau antigen kapsuler lainnya
- c. Reaksi biokimia dan resistensi terhadap fisik dan kimia
- d. Ciri – ciri ekologi (Jawet)

Pengelompokan *Streptococcus* dapat dilakukan berdasarkan kemampuan dalam menghemolisis eritrosit secara *in vitro* dalam beberapa tingkatan. Berdasarkan kemampuan hemolysis eritrosit, *Streptococcus* dikelompokkan menjadi berikut ini:

- a. Hemolisis β = jika melakukan hemolysis secara sempurna ditandai dengan zona jernih di sekitar bakteri
- b. Hemolisis α = hemolysis sebagian yang ditandai dengan reduksi hemoglobin dan pembentukan pigmen hijau.
- c. Non Hemolitik = tidak dapat melisiskan eritrosit

Pengelompokan lain didasarkan pada struktur karbohidrat yang terdapat pada dinding sel *Streptococcus* yang dikenal dengan pengelompokan Lancefield A-H dan K-U. Kelompok *Streptococcus* yang menyebabkan penyakit pada manusia dikelompokkan menjadi kelompok A, B, C, F dan G.

a. *Streptococcus pyogenes*

Secara spesifik menghasilkan hemolisa grup β hemolisa dan sensitif terhadap basitrasin. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C dan merupakan bakteri anaerob fakultatif. Variasi pada spesies ini dapat terjadi seperti terbentuknya koloni yang mengkilap ataupun buram. Koloni yang tampak buram terdiri atas organisme yang menghasilkan banyak protein M dan biasanya bersifat virulen.

Bakteri ini dapat memfermentasi laktosa, salisin dan trehalosa, mannitol, rafinosa, fibrosa atau sorbitol, memproduksi alkalin fosfatase.

b. *Streptococcus agalactiae*

Merupakan Streptococcus grup B, bersifat β hemolisis dan menghasilkan zona hemolisa yang hanya sedikit lebih besar dari ukuran koloni. Bakteri ini merupakan bakteri anaerob fakultatif.

c. *Streptococcus viridans*

Meliputi *S. mistis*, *S. mutans*, *S. salivarius* dan *S. sanguis*. Bersifat α hemolisis tetapi ada yang bersifat non hemolisa. Variasi pada grup ini dapat dibedakan berdasarkan enam reaksi biokimia yaitu hidrolisis arginine, hidrolisis eskulin, urease, voges proskauer, dan produksi asam dari fermentasi mannitol dan sorbitol.

d. *Streptococcus pneumonia*

Biasa disebut Pneumococcus dan merupakan diplococcus gram positif, tersusun dalam bentuk rantai yang memiliki kapsul polisakarida. Uji biokimia yang dihasilkan dari bakteri ini bertolak belakang dengan *S. agalactiae* yaitu hidrolisis arginine, hidrolisis urea, dan fermentasi mannitol serta sorbitol negative.

e. Enterococcus

Bakteri ini memiliki substansi spesifik grup D dan biasanya bersifat non hemolitik tetapi terkadang α hemolisis, bersifat PYR positif. Bakteri ini dapat tumbuh dalam empedu dan menghidrolisa eskulin serta dapat tumbuh dalam NaCl 6.5%. Bakteri ini tumbuh dengan suhu antara 10 – 45°C. Enterococcus resisten terhadap penicillin G dibanding Streptococcus lainnya.

Tabel 2 Karakteristik spesies Streptococcus

SPESES	HEMOLISA	HABITAT	KARAKTERISTIK
<i>S. pyogenes</i>	B	Tenggorokan Kulit	Koloni besar (>0.5 mm) Uji PYRc positif dapat dihambat basitrasin
<i>S. agalactiae</i>	B	Saluran kelamin wanita & saluran pencernaan bawah	Hidrolisis hippurate, CAMP positif
<i>S. dysagalactiae</i>	B, α , Non hemolisa	Tenggorokan	Koloni besar (>0.5 mm)
<i>Enterococcus faecalis</i>	is	Kolon	Tumbuh dalam empedu. Menghidrolisis esculin, Tumbuh pada kadar garam 6.5%, PYR positif
Grup <i>S. bovis</i>	Non hemolisa	Kolon Saluran empedu	Tumbuh dalam empedu, Menghidrolisis esculin, Tumbuh pada kadar garam 6.5%, Mendegradasi pati
Grup <i>S. anginosus</i>	α , β , Non hemolisis	Tenggorokan, Kolon & Saluran kelamin wanita	Spesies hemolitik beta grup A bersifat resisten basitrasin dan PYR negative
<i>S. viridans</i>	α dan Non hemolisis	Mulut, Tenggorokan, Kolon, Saluran kelamin wanita	Resisten optocin, koloni tidak larut dalam empedu
<i>S. pneumonia</i>	α hemolisis	Nasofaring	Sensitif terhadap optocin, koloni larut, reaksi quelling positif
<i>Peptostreptococcus</i>	α dan Non hemolisis	Mulut, Kolon & Saluran kelamin wanita	Anaerob obligat

B. PEMERIKSAAN

Pra analitik

1. Siapkan alat dan media sebagai berikut:

- a. APD Lengkap
- b. Pembakar Spirtus
- c. Kaca obyek
- d. Ose Bulat
- e. Mikroskop
- f. Inkubator
- g. Larutan Cat Gram
- h. Reagen H₂O₂
- i. Media BAP/Blood Agar Plate
- j. Media KPD/Kaldu Pepton Darah
- k. Media Blood Agar/Bile Esculin

2. Sampel : swab tenggorok, pus, darah

Analitik

Lakukan Prosedur Kerja

Hari ke-I

1. Lakukan penyuburan ke media KPD
2. Inkubasi 37°C selama 24 jam

Hari ke-II

1. Lakukan pengecatan Gram dari sampel
2. Inokulasikan ke media BAP dengan ose bulat steril secara goresan, aseptis.
3. Inkubasi 37°C selama 24 jam

Hari ke-III

1. Lakukan pengamatan morfologi koloni pada media BAP
2. Lakukan pengecatan Gram
3. Lakukan tes katalase dari koloni pada media BAP

Cara Kerja :

- a. Buat suspensi bakteri dengan NaCl 0.85%
- b. Tambahkan 1 tetes H₂O₂ 3%
- c. Lakukan pengamatan hasil
Interpretasi Hasil
 - + Uji dinyatakan positif apabila terjadi gelembung gas
 - Uji dinyatakan negatif apabila tidak terjadi gelembung gas
4. Inokulasikan koloni bakteri ke media KPD (Kaldu Pepton Darah) dan media Bile Aesculin
5. Lakukan tes basitracin dan optochin
 - a. Buat suspensi bakteri dengan NaCl 0.85% setara dengan St Mc Farland 0.5
 - b. Lakukan perataan pada media Muller Hinton Agar
 - c. Inkubasi 37°C selama 10-15 menit
 - d. Pasangkan disk antibiotik basitrasin pada tengah media
6. Inkubasi 37°C selama 24 jam.

Hari ke-IV Tanggal

1. Lakukan pengamatan hemolisa pada media KPD
Interpretasi hasil :
Hemolisis α = hemolisa sebagian
Hemolisis β = hemolisa sempurna
Non hemolisa = tidak terjadi hemolisis
2. Lakukan pengamatan pada media Bile Aesculin
Interpretasi hasil
+ Uji dinyatakan positif apabila media berwarna hitam kecoklatan
- Uji dinyatakan negatif apabila tidak ditemukan media berubah menjadi hitam
3. Lakukan pengamatan uji basitracin dan optochin tes
4. Lakukan pengecatan Gram dari media KPD

C. EVALUASI

1. Tes
 - a. Jelaskan perbedaan Streptococcus dari tipe hemolisa

- b. Jelaskan bagaimana cara membedakan *Streptococcus agalactiae* dengan *Streptococcus pyogenes* dari uji basitracin

2. Psikomotor = lembar observasi psikomotor

Diskripsi	1	2	3	4
Hasil Pengecatan	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Warna sel ungu 2. Latar belakang merah muda 3. Susunan bergerombol 4. Tidak ada endapan cat
Hasil Identifikasi	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil hemolisis 2. Pembacaan optochin/basitracin tes 3. Pembacaan hasil katalase benar 4. Menyimpulkan benar	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil hemolisis 2. Pembacaan optochin/basitracin tes 3. Pembacaan hasil katalase benar 4. Menyimpulkan benar	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil hemolisis 2. Pembacaan optochin/basitracin tes 3. Pembacaan hasil katalase benar 4. Menyimpulkan benar	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil hemolisis 2. Pembacaan optochin/basitracin tes 3. Pembacaan hasil katalase benar 4. Menyimpulkan benar

3. Attitude = lembar observasi afektif

Diskripsi	1	2	3	4
Berperilaku Profesional	Peserta tidak melakukan tindakan sama sekali	Peserta melakukan 1-2 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD	Peserta melakukan 3-4 langkah secara benar :	Peserta melakukan 5 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD

		dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik
--	--	--	---	--

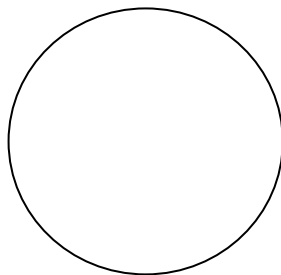
JURNAL PRAKTIKUM
PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI STREPTOCOCCUS SP

Identitas Sampel :

Hari I Tanggal

1. Dilakukan penyuburan ke media KPD
2. Dilakukan pengecatan Gram dari sampel

Hasil:



Bentuk	:
Susunan	:
Warna Sel	:
Cat	:
Reaksi Cat	:
Latar Belakang	:

3. Diinokulasikan ke media BAP dengan ohse bulat steril secara goresan, aseptis.
4. Diinkubasi 37°C selama 24 jam.

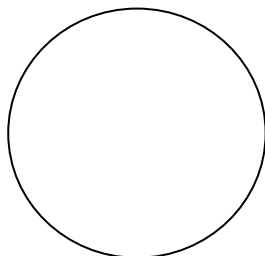
Hari III Tanggal

5. Dilakukan pengamatan morfologi koloni pada media BAP

Bentuk	:
Ukuran	:
Warna koloni	:
Hemolisa	:
Ciri khas	:

6. Dilakukan pengecatan Gram

Hasil:



Bentuk	:
Susunan	:
Warna Sel	:
Cat	:
Reaksi Cat	:
Latar Belakang	:

7. Dilakukan tes katalase dari koloni pada media BAP

Hasil:

8. Diinokulasikan ke media KPD

9. Dilakukan uji optochin dan basitracin test
 - a. Dilakukan inokulasi koloni bakteri dari media BAP ke NaCl 0,9% sampai kekeruhan setara dengan standart Mc Farland 0.5
 - b. Dilakukan perataan pada media BAP
 - c. Dilakukan penempelan disk *optochin dan basitracin*
10. Diinkubasi 37°C selama 24 jam

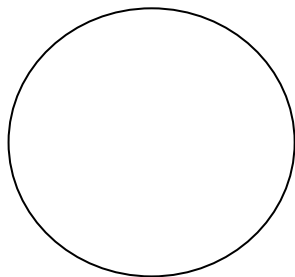
Hari III Tanggal

11. Dilakukan pengamatan hemolisa pada media KPD

Hasil :

12. Dilakukan pengecatan Gram dari media NA Miring

Hasil:



Bentuk :
 Susunan :
 Warna Sel :
 Cat :
 Reaksi Cat :
 Latar Belakang :

13. Dilakukan pengamatan uji optochin dan basitracin test

Interpretasi hasil

Uji Optochin

- 1) Uji dikatakan resisten jika diameter zona hambat < 14 mm (*Streptococcus viridans*)
- 2) Uji dikatakan sensitif jika diameter zona hambat $\geq$ 14 mm (*Streptococcus pneumoniae*)

Uji Basitracin

- 3) Uji dikatakan resisten jika diameter zona hambat < 14 mm mm (*Streptococcus agalactiae*)
- 4) Uji dikatakan sensitif jika diameter zona hambat $\geq$ 14 mm mm (*Streptococcus pyogenes*)

IV. Kesimpulan

Pada sampel no....yang diperiksa ditemukan bakteri.....

Pengampu

Praktikan,

(.....)

(.....)

4. *Pneumokokus: Streptococcus pneumoniae*

A. Pendahuluan

Deskripsi

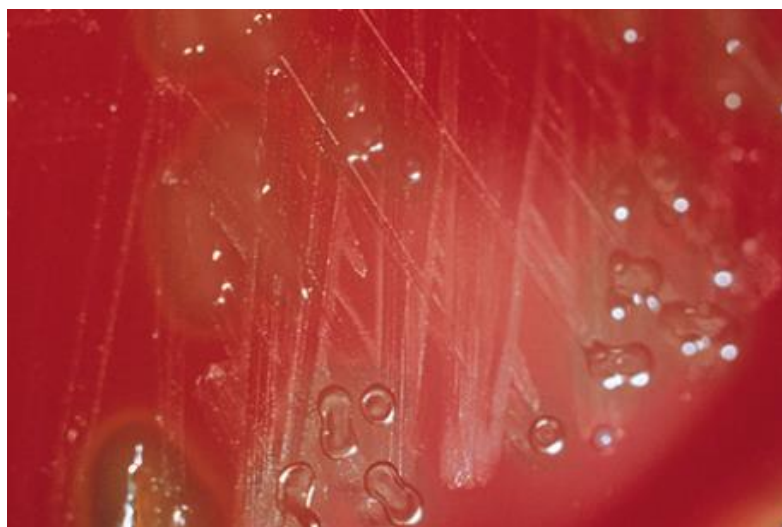
Streptococcus pneumoniae merupakan patogen manusia penting yang menyebabkan pneumonia, sinusitis, otitis media, bakteremia, dan meningitis. *S. pneumoniae* merupakan isolat yang paling sering ditemukan pada anak-anak di bawah usia 3 tahun dengan otitis media berulang. *S. pneumoniae*, penyebab utama pneumonia bakteri, terutama sering terjadi pada orang lanjut usia dan pasien dengan penyakit yang mendasarinya. Dari lebih dari 90 serotipe kapsul, sekitar selusin merupakan penyebab sebagian besar kasus pneumonia pneumokokus. Agar seseorang dapat tertular pneumonia pneumokokus, organisme tersebut harus ada di nasofaring, dan orang tersebut harus kekurangan antibodi sirkulasi spesifik terhadap tipe kapsul dari strain kolonisasi *S. pneumoniae*. Setelah infeksi awal, bakteri tersebut dapat bertahan selama berminggu-minggu atau berbulan-bulan tanpa menyebabkan penyakit. Pada beberapa individu, penyakit invasive terjadi yang menyebabkan pneumonia yang didapat dari masyarakat (Mahon and Lehman 2019).

Pneumonia yang disebabkan *S. pneumoniae* biasanya bukan infeksi primer tetapi akibat dari gangguan pada pertahanan normal tubuh. Kondisi predisposisi, seperti alkoholisme, anestesi, malnutrisi, dan infeksi virus pada saluran pernapasan atas, dapat menyebabkan penyakit pneumokokus dalam bentuk pneumonia lobaris. Infeksi dimulai dengan aspirasi sekresi pernapasan, yang sering mengandung pneumokokus. Organisme yang menginfeksi di alveoli merangsang keluarnya cairan, yang berfungsi untuk memfasilitasi penyebaran organisme ke alveoli yang berdekatan. Proses ini berhenti Ketika cairan mencapai septa fibrosa yang memisahkan lobus paru-paru utama. Pneumonia pneumokokus ditandai dengan timbulnya menggigil, dispnea, dan batuk secara tiba-tiba.

S. pneumoniae diisolasi dari berbagai spesimen klinis. *S. pneumoniae* merupakan anggota kelompok *S. mitis*, tetapi jauh lebih virulen daripada anggota kelompok lainnya. Dinding sel *S. pneumoniae* mengandung antigen, yang disebut sebagai zat C, yang mirip dengan karbohidrat C dari berbagai kelompok Lancefield. Suatu β -globulin dalam serum manusia, yang disebut protein C-reaktif (CRP), bereaksi dengan zat C untuk membentuk

endapan. Ini adalah reaksi kimia dan bukan kombinasi antigen-antibodi. Jumlah CRP meningkat selama peradangan dan infeksi (Mahon and Lehman 2019).

Kebutuhan nutrisi *S. pneumoniae* rumit, Media seperti brain-heart infusion agar, trypticase soy agar dengan 5% darah domba, atau agar cokelat diperlukan untuk pertumbuhan yang baik. Beberapa isolat memerlukan peningkatan konsentrasi CO₂ untuk pertumbuhan selama isolasi primer. Isolat menghasilkan zona α -hemolisis yang besar pada agar darah domba yang mengelilingi koloni. Kultur muda tampak bulat, berkilau, basah, berlendir, dan berbentuk seperti kubah dengan zona α -hemolisis (Gambar 12.1). Saat koloni menjadi lebih tua, perubahan autolitik menyebabkan kolapsnya bagian tengah setiap koloni, sehingga tampak seperti koin dengan tepi yang menonjol. Kecenderungan *S. pneumoniae* untuk mengalami autolisis dapat mempersulit pemeliharaan isolat agar tetap hidup. Uji kerentanan optochin dan kelarutan empedu dapat digunakan untuk membedakan *S. pneumoniae* dengan *S. viridans*. Uji kerentanan optochin memanfaatkan fakta bahwa *S. pneumoniae* rentan terhadap optochin, sedangkan spesies α -hemolitik lainnya resisten. Uji kelarutan empedu menentukan lisis *S. pneumoniae* dengan adanya garam empedu.



Gambar 6 Pertumbuhan *S. pneumoniae* pada agar darah (Mahon & Lehman 019)

Tujuan

1. Mampu melakukan identifikasi *S. pneumoniae* dengan menggunakan media mikrobiologis, pewarnaan dan pengamatan mikroskopis

Kompetensi

1. Mahasiswa mampu melakukan inokulasi pada media
2. Mahasiswa mampu meninterpretasikan hasil pewarnaan Gram
3. Mahasiswa mampu menginterpretasikan biakan bakteri yang tumbuh pada media mikrobiologis

B. Praktikum

Alat

- Neraca analitik
- Beker gelas
- Sendok
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Kapas
- *Aluminium foil*
- Kaca objek
- Mikroskop
- Pewarna Gram
- *Hot plate*
- Cawan petri steril
- Ose steril
- Kapas lidi
- Inkubator

Bahan

Bahan yang digunakan adalah sebagai berikut:

- *Pancreatic digest of casein USP 15.0 g*
- *Papaic digest of soy meal USP 5.0 g*
- *NaCl 5.0 g*
- *Agar 15.0 g*
- *Distilled water 1,000 ml*
- *5% (vol/vol) sterile defibrinated blood*

▪ Pra Analitik

Sampel

Laboratorium mungkin menerima cairan dari aspirasi pleura untuk kultur. Meningitis biasanya terjadi setelah infeksi *S. pneumoniae* lainnya, seperti otitis media atau pneumonia. Apusan langsung cairan serebrospinal sering kali menunjukkan leukosit dan banyak kokus gram positif berpasangan. Bakteremia sering terjadi selama infeksi

serius. Sampel untuk kultur darah sering diambil bersamaan dengan sputum (sputum) atau aspirasi cairan (Mahon and Lehman 2019).

- **Analitik**

Cara Kerja (Prinsip Tes, Pembuatan Media dan Inokulasi)

1. Prinsip Tes

Blood Agar merupakan media yang diperkaya untuk tujuan umum yang sering digunakan untuk menumbuhkan organisme yang sulit tumbuh dan untuk membedakan bakteri berdasarkan sifat hemolitiknya.

2. Pembuatan Blood Agar Plate

- Campurkan bahan-bahan tersebut dan sesuaikan pH menjadi 7,3.
- Rebus agar agar larut,
- Autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm pada suhu 121°C. Dinginkan pada suhu 45°C -50°C.
- Agar steril yang telah dicairkan dan didinginkan hingga 45 hingga 50°C, tambahkan 5% (vol/vol) darah steril yang telah didefibrilasi yang telah dihangatkan hingga suhu ruangan.
- Putar labu untuk mencampur secara menyeluruh, hindari pembentukan gelembung, dan tuang ke dalam piring steril, terus hindari gelembung dan buih di permukaan.
(CATATAN: Mendinginkan agar dan menghangatkan darah merupakan langkah penting dalam prosedur ini. Agar panas dapat merusak sel darah merah, dan darah dingin dapat menyebabkan agar menjadi gel sebelum dituangkan.)
- Tuang ke dalam cawan Petri steril. Segel cawan petri dengan parafilm, balik media dan simpan di dalam kulkas (American Society for Microbiology 2016) .

3. Inokulasi

- Beri label identitas pasien dan tanggal penanaman pada media Blood Agar Plate.
- Nyalakan api Bunsen
- Ambil kapas lidi yang berisi spesimen lalu dioleskan satu titik pada media BAP.
- Ratakan olesan dengan digores menggunakan ose steril pada media CHOC Agar dengan teknik 4 kuadran
- Inkubasi media pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam Amati pertumbuhan koloni pada media BAP

- Lakukan pewarnaan Gram
- **Pasca Analitik**
 1. Interpretasi hasil
Pertumbuhan *S. pneumoniae* kultur muda tampak bulat, berkilau, basah, berlendir, dan berbentuk seperti kubah dengan zona α -hemolisis. Rujukan dapat dilihat pada kit insert media yang digunakan.
 2. Buatlah kesimpulan
 3. Bersihkan alat dan bahan yang telah selesai digunakan
 4. Tuliskan laporan hasil identifikasi

C. Evaluasi

1. Deskripsikan pertumbuhan *S. pneumoniae* pada media BAP
2. Deskripsikan hasil pewarnaan Gram *S. pneumoniae* !
3. Bagaimana cara membedakan *S. pneumoniae* dengan *S. viridans* ?

D. Penutup

Ringkasan

Streptococcus pneumoniae merupakan patogen manusia penting yang menyebabkan pneumonia, sinusitis, otitis media, bakteremia, dan meningitis. *S. pneumoniae* membutuhkan nutrisi yang rumit. Bakteri dapat tumbuh pada BAP dan CHOC agar. Koloni pada BAP akan menunjukkan zona α -hemolisis.

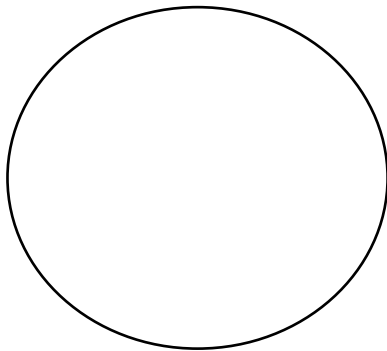
JURNAL PRAKTIKUM
PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS *Streptococcus pneumoniae*

Nama Mahasiswa: _____ Tanggal Praktikum : _____

1. Hasil Pengamatan makroskopis (Pengamatan koloni yang tumbuh pada media)

Nama media : _____
 Bentuk koloni : _____
 Ukuran koloni : _____
 Warna koloni : _____
 Tepian koloni : _____

2. Hasil pengamatan mikroskopis setelah pewarnaan (Gambarlah hasil pengamatan dari mikroskop)

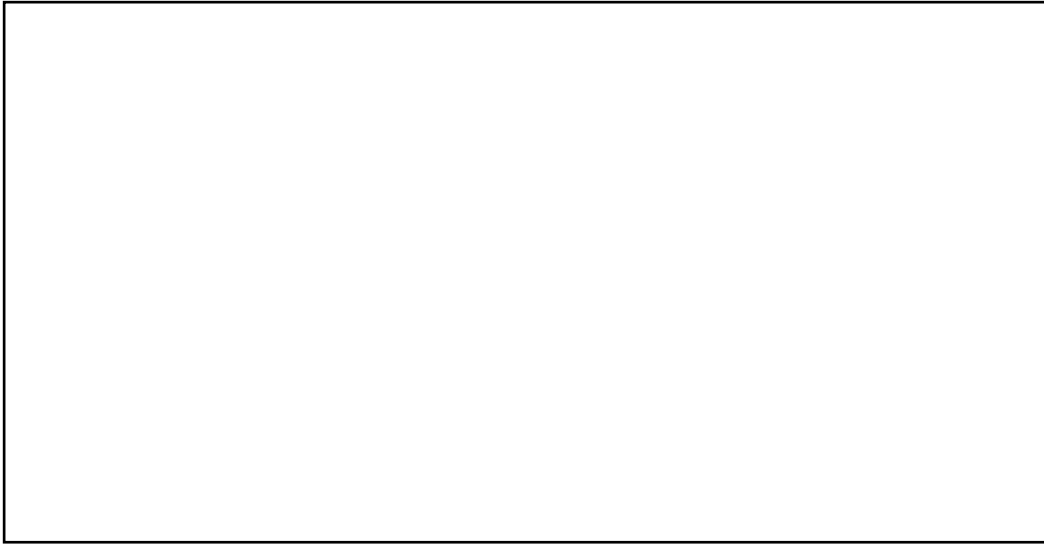


Bentuk : _____
 Susunan : _____
 Warna Sel : _____
 Jenis Pewarnaan: _____
 Hasil Pewarnaan: _____
 Latar Belakang : _____
 Perbesaran : _____

3. Hasil uji biokimia (Isi dengan positif: + ; negatif: -; ada : v; tidak ada: x)

Bakteri	TSIA				Indol	MR	VP	Citrat	Urea	Katalase	Koagulse	Oksidase
	Atas	Bawah	Gas	H ₂ S								

4. *Kesimpulan*



Dosen Pengampu,

Praktikan,

(.....)

(.....)

BAB III

BAKTERI GRAM NEGATIF

1. *Escherichia coli* (*E.coli*)

Pendahuluan

E. coli merupakan kuman oportunistis yang banyak terdapat di usus besar (colon) manusia dan sebagai flora normal colon, sifat *E. coli* dapat menyebabkan infeksi primer pada usus besar sehingga dapat menyebabkan penyakit diare. Kuman *E. coli* merupakan sebagian besar flora normal didalam usus yang bersifat aerob, umumnya kuman ini tidak menyebabkan penyakit melainkan dapat membantu fungsi humoral dan nutrisi. Organisme ini dapat menjadi pathogen apabila mencapai jaringan diluar saluran pencernaan khususnya saluran air kemih, saluran empedu, paru-paru dan pada selaput otak dapat menyebabkan peradangan. Hal ini dapat terjadi bila daya tahan atau kekebalan tubuh lemah pada tempat tersebut. Bila daya tahan normal tuan rumah tidak cukup, khususnya pada bayi yang baru lahir, pada usia tua, pada stadium penyakit lain, setelah menjadi patogen pada usus dapat menyebabkan diare, sakit kulit dan lain sebagainya.

Sampai saat ini bakteri yang dapat digunakan sebagai indikator sanitasi antara lain *E. coli*, kelompok streptokokus (enterokokus) fekal, dan *Clostridium perfringens*. Menurut Pelczar and Chan (1986), bakteri *E.coli* adalah bakteri yang paling banyak digunakan sebagai indikator sanitasi karena bakteri ini adalah bakteri komensal pada usus manusia, umumnya merupakan patogen penyebab penyakit dan relatif tahan hidup di air sehingga dapat dianalisis keberadaannya di dalam air yang sebenarnya bukan medium yang ideal untuk pertumbuhan bakteri.

Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi ilmiah bakteri *E.coli* adalah sebagai berikut menurut Kuswiyanto (2016)

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: <i>Escherichia coli</i>

Morfologi

E. coli merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0,4-0,7 X 1,4 mikron. Volume sel *E. coli* berkisar 0.6-0.7 m³. Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 7-44°C dengan suhu optimumnya pada 37°C dan tergolong bakteri Gram negative (Kurniati, et al., 2020). Sebagian bergerak aktif (motil) dengan flagel peritrik, tidak membentuk spora, ada yang berkapsul, memiliki fimbria, menghasilkan sejumlah kecil vitamin B₁₂ dan K, merupakan flora normal usus.

Fisiologi

E. coli tumbuh pada media sederhana dengan pH 7,2. Bakteri ini ada yang aerobik dan anaerob fakultatif. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 7-44 ° C (dengan suhu optimum 37 ° C). morfologi koloni ada yang *smooth* (S) dan *Rough* (R) atau keduanya. S = bentuk halus terlihat pada isolat segar, dapat dengan mudah diemulsi dalam garam. R = bentuk kasar terlihat pada kultur yang lebih tua, dengan bentuk kusam, permukaan tidak beraturan, sering kali dapat digumpalkan secara otomatis dalam larutan garam. Hasil uji biokimia reaksi ditunjukkan pada Tabel 1 berikut :

Tabel 3. Hasil uji diagnostik *E.coli*

Tes /Uji	Hasil
Katalase	+
Oksidase	-
Reduksi nitrat menjadi nitrit	+
Indol	+
Metal-Red (MR)	+
Voges-Proskauer	-
Citrat	-
IMViC (Indol, MR, VP, Citrate)	++--
Gelatin liquefaction	Negatif
ONPG (O-nitrophenyl-beta-D-Polygalactopyranoside)	+
Produksi H ₂ S	-
Peragian laktosa, glukosa, manitol, maltose dengan membentuk asam dan gas	+
Tes urease	-
Motilitas	+/-

Perbandingan hasil uji TSIA pertumbuhan *E.coli* dengan bakteri lain dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 4. Hasil Uji TSIA

Bakteri	TSIA			
	Lereng	Dasar	Gas	H₂S
<i>E.coli</i>	Kuning	Kuning	+	-
Klebsiella	Kuning	Kuning	+	-
Enterobacter	Kuning	Kuning	+	-
Citrobacter	Kuning	Kuning	-	+
Salmonella	Merah	kuning	-	+
Shigella	Merah	kuning	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	Merah/ kuning	kuning	-	+

Kuman *E.coli* pada media Eosin metylen blue (EMB) menunjukkan koloni yang bulat kecil hingga sedang, smooth (halus), berwarna hijau metalik.

PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI KUMAN

Escherichia coli

A. TUJUAN

Untuk mengidentifikasi bakteri *E.coli* berdasarkan sifat-sifatnya pada berbagai media.

B. KOMPETENSI

Kompetensi yang ingin dicapai pada materi ini adalah

1. Dapat melakukan persiapan alat, bahan dan reagen untuk identifikasi *E.coli*
2. Dapat melakukan pemeriksaan identifikasi *E.coli*
3. Dapat melakukan interpretasi hasil dan verifikasi hasil identifikasi *E.coli*

C. ALAT

- | | |
|------------------|------------------------------|
| 1. Ose bulat | 10. Cawan petri |
| 2. Ose jarum | 11. Erlenmeyer |
| 3. Pipet Pasteur | 12. Gelas ukur |
| 4. Tabung reaksi | 13. Rak tabung |
| 5. Korek api | 14. Wadah api spirtus |
| 6. Incubator | 15. Beaker glass |
| 7. Objek glass | 16. Spatula |
| 8. Mikroskop | 17. Kawat kasa dan kaki tiga |
| 9. Autoklaf | |

D. BAHAN

1. *Media Mac Conkey (MC)*
2. *Media Eosin Methylen Blue (EMB)*
3. *Media rekasi biokimia (TSIA, Gula-gula, Indol, Voges Praskeaur (VP), Methyl Red (MR), Simon Citrate, Semi Solid, Urea)*
4. *Suspensi kuman E.coli*
5. *Reagen Indol (kovac)*
6. *Alpha naftol 5%*
7. *KOH 40%*
8. *NaOH 0,1N dan HCl 0,1N*
9. *Reagen Methyl Red*
10. *Reagen Pewarnaan Gram (carbol gentian violet, lugol, alcohol 96%, safranin)*

11. Spirtus
12. Kertas Ph
13. *Aquades*
14. *Kapas, Kasa, tissue lens dan Tissue*

E. CARA KERJA

Hari Pertama :

1. Siapkan Alat dan bahan yang telah disteril dan bersih di atas meja praktikum.
2. Buatlah preparat dari suspensi kuman pada media perbenihan Bouillon atau Nutrient Broth.
3. Lakukan pewarnaan Gram bakteri serta pengamatan dengan lensa objektif 100x
4. Lakukan penanaman pada MC dan EMB jika hasil pewarnaan ditemukan kuman basil (teknik gores T atau Y)
5. Lakukan inkubasi media pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hari Kedua :

1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
2. Siapkan media MC dan EMB yang telah diinkubasi dari inkubator yang telah ditanami kuman selama 24 jam pada suhu 37°C.
3. Lakukan karakterisasi morfologi koloni kuman pada media MC dan EMB meliputi Bentuk koloni, warna koloni, tekstur koloni, tepian koloni, permukaan koloni, sifat koloni dan indikator media (jika ada)
4. Lakukan penanaman pada media reaksi biokimia dari media MC dengan diambil 1 koloni tunggal pada media reaksi biokimia :

a. Media Cair

- Media Gula-gula : glukosa, sukrosa, laktosa, maltose, dan mannose.
- Air peptone (indol)
- Media VP
- Media MR

Ambil 1 mata ose bulat dari satu koloni kuman. Lalu ditanam berurutan dari 1 mata ose tadi tanpa mengambil kuman lagi

b. Media Simon Citrat dan Urea

Lakukan setelah ose terakhir di media MR dilanjutkan ke media Simon citrate dan urea dengan teknik gores zig-zag

c. Media TSIA dan Semi Solid

Ambil 1 mata ose jarum dari koloni yang sama dengan pengambilan ose bulat. Lalu tanam berurutan TSIA ke Semi Solid.

5. Lakukan inkubasi media reaksi biokimia dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

Hari Ketiga :

Amati dan catat hasil penanaman pada media reaksi biokimia. Untuk media VP, MR dan Indol harus ditetesi terlebih dahulu dengan reagen :

1. Indol dengan reagen kovac sebanyak 2 tetes
2. MR dengan reagen methyl red sebanyak 2-3 tetes
3. VP dengan reagen KOH sebanyak 1 tetes dan Alpha naftol sebanyak 3 tetes.

Unit Kompetensi yang dinilai :

No.	Unit Kompetensi	Bobot	Nilai (10-100)
1.	Melakukan persiapan Alat dan reagen	3	
2.	Melakukan Pemeriksaan	3	
3.	Melakukan Interpretasi dan Verifikasi Hasil	3	
4.	Melakukan Pelaporan Hasil	2	
5.	Perilaku Profesional	2	

Penutup

E. coli merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0,4-0,7 X 1,4 mikron. Volume sel *E. coli* berkisar 0.6-0.7 m³. Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 7-44°C dengan suhu optimumnya pada 37°C dan tergolong bakteri Gram negative. Sebagian bergerak aktif (motil) dengan flagel peritrik, tidak membentuk spora, ada yang berkapsul, memiliki fimbria, menghasilkan sejumlah kecil vitamin B₁₂ dan K, merupakan flora normal usus.

Evaluasi

Kerjakanlah latihan berikut untuk memperdalam pemahaman anda terhadap materi praktikum di atas!

1. Jelaskan mengapa *E.coli* pada media EMB menghasilkan warna hijau metalik!
2. Jelaskan perbedaan *E.coli* dengan *Klebsiella* sp!
3. Jelaskan tujuan perbenihan *E.coli* pada TSIA!
4. Jelaskan penyebab media gula-gula yang ditanami *E.coli* mampu berubah warna menjadi kuning!

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI KUMAN *E.coli*

Judul Praktikum :..... Nama :.....

Tanggal Praktikum : NIM :

▪

HARI PERTAMA

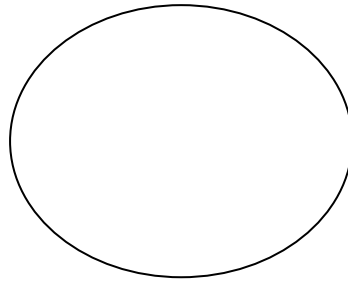
Hasil Pewarnaan Gram

Bentuk sel :

Susunan :

Warna sel :

Sifat Gram :



HARI KEDUA

Hasil Pengamatan

Media	Morfologi Koloni
MC	Bentuk koloni: Tepian : Permukaan : Tekstur : Warna Koloni: Sifat Fermentasi : Fermenter laktosa atau non-fermenter laktosa (*)
EMB	Bentuk koloni: Tepian : Permukaan : Tekstur : Warna Koloni:

HARI KETIGA

Hasil pemeriksaan biokimia reaksi di hari ketiga

Spesies bakteri	TSIA				Gula-Gula					indol	Vp	Mr	Cit	Urea	Motil
	Lrg	Dsr	Gas	H ₂ S	Glu	lak	suk	Mal	man						

Perhitungan persentase :

$$\frac{X}{Y} \times 100\%$$

Keterangan:

X : Jumlah Pemeriksaan Tabel yang benar

Y : Jumlah Seluruh Pemeriksaan Tabel

Kebenaran (%)	Kesalahan (%)

Kesimpulan :

.....

Praktikan

Pembimbing Praktikum

(.....)

(.....)

2. *Klebsiella pneumoniae*

A. PENDAHULUAN

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri yang terdapat dalam saluran nafas dan feses pada sekitar 5% individu normal, menyebabkan sebagian kecil pneumonia bakteri (sekitar 1 %), dapat menyebabkan nekrotik hemoragik yang extensive di paru – paru, *infeksi saluran kemih dan bakteremia dengan lesi fokal pada pasien yang lemah*. Bakteri Enterik lain juga dapat menyebabkan pneumonia. Spesies *Klebsiella* termasuk peringkat di antara sepuluh patogen bakteri teratas yang bertanggung jawab atas infeksi yang didapat di rumah sakit. *Klebsiella pneumonia* dan *Klebsiella oxytosa* menyebabkan infeksi nosocomial. Dua *Klebsiella* lainnya berhubungan dengan kondisi peradangan pada saluran pernapasan bagian atas: *Klebsiella pneumoniae* subspecies *ozaenae* telah diisolasi dari mukosa hidung di Ozena, janin, progresif atrofi selaput lendir; dan subspecies *K pneumoniae rhinoscleromatis* membentuk rhinoscleroma, Granuloma destruktif pada hidung dan faring. *Klebsiella granulomatis* (untuk *merly Calymmatobacterium granulomatis*) menyebabkan Penyakit kronis ulseratif genital, granuloma inguinale, penyakit menular seksual yang tidak umum. Organisme sulit tumbuh pada media yang mengandung kuning telur. Ampisilin atau tetracycline adalah pengobatan yang efektif. Ciri morfologi *Klebsiella pneumoniae* antara lain bakteri bentuk batang ada yang pendek – panjang, berpasangan atau berderet, bersifat gram negatif, tidak berspora, tidak bergerak, menghasilkan pertumbuhan yang mukoid, karena adanya kapsul polisakarida yang besar, spesies ini menunjukkan hasil positif pada lisin karboksilase, sitrat dan memberikan hasil positif terhadap reaksi Voges - Proskauer. Sifat patogenitas bakteri ini dapat hidup sebagai saprofit pada lingkungan hidup seperti pada air, tanah, makanan dan sayur – sayuran. Dapat menimbulkan infeksi pada saluran kemih, paru – paru, saluran pernafasan, luka dan septicemia.

B. PRAKTIKUM

1. Pra - Analitik, meliputi :

a. Persiapan alat, media agar dan media cair

➤ Alat yang diperlukan pada identifikasi bakteri *Klebsiella* antara lain :

- lampu spiritus
- ose
- objek glas

- incubator
- tabung reaksi untuk membuat gula – gula
- cawan petri
- korek api
- Media agar yang diperlukan untuk identifikasi bakteri ini meliputi antara lain : EMB agar/Endo Agar/Mac Conkey agar/Blood agar plate.
- Media cair dan semi solid :
 - TSB
 - Glukosa
 - Laktosa
 - Manosa
 - Maltose
 - Sukrosa
 - Air pepton
 - Voges Proskauer
 - SIM medium
 - Simmon citrat agar
 - TSIA

b. Pengambilan sampel

Sampel untuk identifikasi Klebsiella tergantung permintaan pemeriksaan, sampel meliputi:

- | | |
|----------------|-----------------|
| • Sputum | • Secret hidung |
| • Urine | • Makanan |
| • Pharynx swab | • Minuman |
| • Faeces | • Air |

2. Analitik

Bahan pemeriksaan : faeces atau rectal swab. Atau sampel yang lain yang tersedia

Cara pemeriksaan :

Hari I

Meliputi pemeriksaan mikroskopis dan pembiakan

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan pengecatan gram dan kapsul dari sampel :

Pembuatan sediaan apus dengan pengecatan gram

Cara kerja

- a. Siapkan objek glass yang bersih, ambil sampel menggunakan ose, buatlah sediaan apus pada bagian tengah objek glas yang sudah diberi tanda. Apabila sampel tersedia pada lidi kapas, kaca objek harus disterilkan dahulu dengan cara dilewatkan pada nyala api lampu spiritus dan dibiarkan mendingin. Lidi kapas kemudian digulirkan perlahan pada permukaan kaca, tanpa menggosok atau memberi tekanan yang berlebihan.
- b. Biarkan sediaan kering di udara, kalau sudah kering lakukan fiksasi
- c. Lakukan pengecatan gram
- d. Periksa di mikroskop pada perbesaran 10 x 100 menggunakan minyak imersi
- e. Selain pengecatan gram juga dilakukan pengecatan kapsul menggunakan metode Burry Gins

Pemeriksaan mikroskopik dari bahan langsung (direct-preparate), hasilnya sebagai berikut:

- Pengecatan Gram : Gram negatif, bentuk batangnya pendek - panjang berpasangan atau berderet.
- Pengecatan Kapsul (metode Burry Gins) : kapsul transparan, badan bakteri merah

Pembiakan :

↔ Hari I

Sampel ditanam pada media enrichment (penyubur) bisa menggunakan BHI (*Brain Heart Infusion*) atau TSB (*Tryptic Soy Broth*). Dan ditanam pada media blood agar plate dan Mac Conkey agar plate Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

↔ Hari II

Koloni tersangka *Klebsiella* :

- Mac Conkey Agar : koloni besar-besar, berwarna merah muda-merah bata, smooth, cembung, mucoid atau tidak. Kalau koloni diambil dengan ose kelihatan molor seperti tali atau benang
- Blood Agar : koloni besar-besar, berwarna abu-abu, smooth, cembung, mucoid atau tidak, anhaemolitis.

Koloni tersangka *Klebsiella* pada blood agar plate dan Mac Conkey agar plate ditanam pada media gula – gula lengkap (glukosa, laktosa, manosa, maltose, sukrosa) IMVIC (air pepton (uji Indol), MR (Methyl Red), VP (Voges Proskauer), Citrat). SIM (Sulfit Indol Mortility). TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Lalu Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di inkubator.

↔ Hari III

Lakukan pembacaan hasil pertumbuhan pada media gula – gula dan media identifikasi serta dikerjakan tes kimia. Hasil kemudian dicocokkan atau dikonversikan dengan ciri – ciri dan tabel untuk *Klebsiella*.

Tabel 5 Hasil Biokimia *Klebsiella*

Ciri biokimia <i>Klebsiella pneumoniae</i> adalah sebagai berikut : Tes biokimia	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. rhinocleromatis</i>	<i>K. ozanae</i>
Glukosa	+g	+g	+/+g	+g/+
Laktosa	+	+	-	-/+
Manitol	+	+	+	+
Maltosa	+	+	+	+
Sakarosa	+	+	-	+
Indol	-	+	-	-
MR	-/+	-/+	+	+
VP	+	+	-	-
Simmon Citrate	+	+	-	-/+
Motility	-	-	-	-
H+S	-	-	-	-

TSIA : Lereng : Kuning Gas : (+)

Dasar : Kuning H₂S : (-)

Catatan :

Pada hari 2, apabila bakteri tidak tumbuh pada media agar, tetapi tumbuh pada media pengaya maka, pada hari kedua dilakukan penanaman ulang pada media agar

3. Pasca Analitik

Kegiatan pada tahap ini meliputi :

- a. Membuat kesimpulan
- b. Membuat laporan hasil identifikasi
- c. Membersihkan alat dan bahan yang telah selesai digunakan

C. EVALUASI

Tugas :

1. Membuat resume jenis sampel untuk identifikasi *Klebsiella pneumoniae* dan cara pengambilan

Tes :

1. Mahasiswa diminta melakukan identifikasi secara biokimia untuk membedakan spesies *Klebsiella pneumoniae* dengan *Klebsiella oxytosa*
2. Mahasiswa diminta melakukan pemeriksaan sampel sputum dari pasien tersangka pneumonia, pembimbing meminta anda melakukan identifikasi untuk mengetahui spesies bakteri penyebabnya, secara mikroskopik dengan pengecatan gram diperoleh bakteri bentuk batang, gram negatif. Bagaimanakah hasil uji biokimia untuk bakteri *Klebsiella pneumoniae*.
3. Mahasiswa diminta melakukan pengambilan sampel urine pada pasien tersangka ISK, pembimbing meminta anda melakukan identifikasi bakteri penyebab. Sampel urine apakah yang baik dan mudah pengambilannya, dan bagaimana cara anda menjelaskan pada pasien untuk mengambil sampel tersebut.
4. Mahasiswa diminta melakukan pemeriksaan bakteri menggunakan sampel urine dari pasien tersangka ISK yang di rawat di Rumah sakit, tanpa sengaja wadah sampel urine tersenggol dan tumpah, apa yang harus anda lakukan

Lembar penilaian psikomotor

Diskripsi	1	2	3	4
Hasil Pengecatan	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Bentuk Bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Bentuk Bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Bentuk Bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Bentuk Bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat

Hasil Identifikasi	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula – gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula – gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula – gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula – gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar
--------------------	--	--	--	--

Lembar penilaian Afektif

Diskripsi	1	2	3	4
Berperilaku Profesional	Peserta tidak melakukan tindakan sama sekali	Peserta melakukan 1-2 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik 6. Mengumpulkan jurnal sesuai ketentuan	Peserta melakukan 3-4 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik 6. Mengumpulkan jurnal sesuai ketentuan	Peserta melakukan 6 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik 6. Mengumpulkan jurnal sesuai ketentuan

D. PENUTUP

Ringkasan :

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri saprofit pada lingkungan hidup dan pada tubuh manusia, dapat bersifat pathogen menimbulkan penyakit seperti ISK, ciri morfologi bakteri ini bentuk batang pendek – panjang, gram negative, tidak bergerak, tidak berspora berkapsul sehingga menghasilkan koloni mukoid . sifat biokimia memfermentasi glukosa, laktosa, manosa, maltose, sukrosa menjadi asam dan menghasilkan gas, gerak negative indol negatif, metil red positif dan uji VP positif.

JURNAL PRAKTIKUM

JUDUL :

IDENTIFIKASI :

NAMA :

TANGGAL :

TTD :

"NO. BAHAN :

Hari I :

Dari media enrichment/pengaya.....dilanjutkan :

1. Isolasi

Bahan pemeriksaan ditanam pada media :

a.

b.

dieramkan 37°C selama satu malam (18-24 jam)

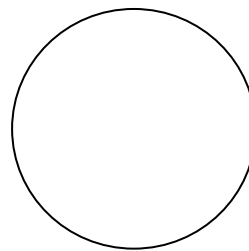
2. Pewarnaan Gram

Perbesaran :

Hasil :

Sampel

- Bentuk :
- Susunan :
- Warna :
- Sifat :



3. Pewarnaan kapsul metode Burry Gins

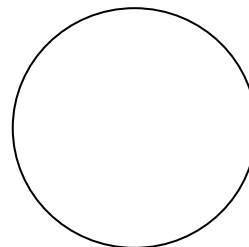
Hasil :

Perbesaran :

Sampel

Warna bakteri :

Kapsul :



Hari II :

1. Pengamatan hasil isolasi :

	Media :	Media :
Bentuk		
Warna		
Ukuran		
Elevasi		

Permukaan		
Sifat		

2. Uji biokimia

Koloni tersangka ditanam pada media uji Biokimia meliputi glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sakarosa, air pepton, MR/VP, citrat, SIM, TSIA. Diinkubasi pada inkubator suhu 37°C selama 24 jam.

Hari III :

1. Pengamatan hasil penanaman pada media uji Biokimia

Hasil :

Glukosa :

Laktosa :

Manitol :

Maltosa :

Sakarosa :

IMVIC

● Indol :

● Methyl Red :

● Veges Proskauer :

● Citrat :

SIM -Sulfit :

-Indol :

-Mortility :

TSIA : /....., gas..... H₂S.....

Kesimpulan :

Dari bahan nomor :----- didapatkan bakteri :

Pembahasan :

Praktikan

Pembimbing

()

()

3. *Salmonella* sp.

Pendahuluan

Salmonella adalah agens penyebab penyakit gastroenteritis yang ringan hingga demam tifoid yang berat disertai bakteremia. *Salmonella* adalah agen penyebab salmonellosis yaitu penyakit endemis dan menimbulkan kerugian yang besar di Indonesia (Jawetz et al.,2010). Oleh Ewing, *Salmonella* diklasifikasikan ke dalam 3 spesies, yaitu *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhi*, dan *Salmonella enteritidis*. Kuman dengan tipe antigenik yang lain dimasukkan kedalam serotip *Salmonella paratyphi enteritidis*, bukan sebagai spesies baru lainnya. Misalnya, *Salmonella paratyphi* A sekarang diklasifikasikan sebagai *Salmonella enteritidis bioserotip paratyphi A*. *Salmonella* pertama kali ditemukan oleh Daniel Elmer Salmon D.V.M. pada tahun (1850-1914) pada usus babi. Pada tahun 1980, lebih dari 30.000 orang AS dilaporkan terinfeksi *Salmonella*, dan semakin bertambah menjadi 42.028 pada tahun 1986. CDC melaporkan tahun 1998-2002 ada 128.370 kasus infeksi.

Klasifikasi *Salmonella* sp.

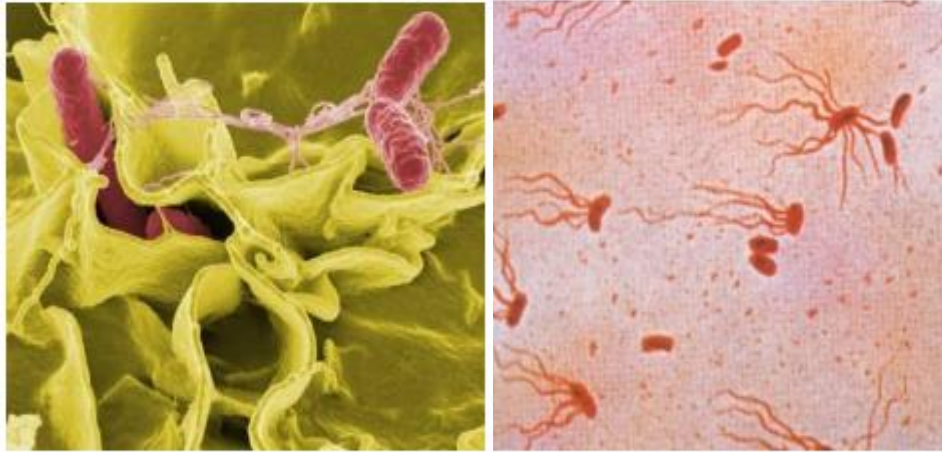
Klasifikasi ilmiah bakteri *Salmonella* sp. adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Species	: <i>S. enterica</i> , <i>S. Bongori</i>

Morfologi

Kuman *Salmonella* berbentuk batang, tidak berkapsul (Kecuali *S.typhi*) tidak berspora, bersiat Gram negatif, berukuran 1-3,5 um x 0,5-0,8 um, besar koloni rata-rata 2-4 mm, mempunyai flagel peritrik kecuali *Salmonella pullorum* dan *Salmonella galinarum* (Gambar 14.1). *Salmonella* hidup di saluran usus cacing dan hewan berdarah dingin, namun sebagian juga ada yang kosmopolit. Umumnya, kuman *Salmonella* berdiri sendiri (tunggal) dan jarang membentuk rantai lebih dari dua. *Salmonella* dapat tumbuh dengan mudah pada media sederhana. Pada media selektif dan diferensial yang

mengandung garam empedu dan laktosa menunjukkan koloni bentuk “S” dengan laktosa negative. Menghasilkan H₂S dan koloni terlihat seperti “cat-eye”



Gambar 7 *Salmonella* sp. dengan flagel peritrik
(Kuswiyanto, 2017)

Fisiologi

Kuman *Salmonella* tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif, pada suhu 15-41°C (suhu pertumbuhan optimum 37,5°C) dan pH pertumbuhan 6-8. Umumnya, isolate kuman *Salmonella* dikenal berdasarkan sifatnya, yaitu dapat bergerak (motil), reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif, serta memberikan hasil negatif pada reaksi indol, D-nase, fenilalanin deaminase, urease, *Voges Proskauer*, dengan kata lain reaksi IMViC : - + - +. Reaksi fermentasi membentuk negatif terhadap sukrosa, laktosa, adonitol, menghasilkan H₂S pada thiosulfate.

Salmonella typhi hanya membentuk sedikit H₂S dan tidak membentuk gas pada fermentasi glukosa. Media lain seperti agar EMB (*Eosine Methylene Blue*), *Mac Conkey* atau medium deoksikholat dapat mendeteksi adanya lactose non-fermenter seperti bakteri *Salmonella typhi* dengan cepat.

Untuk mendeteksi *S. typhi* dengan cepat dapat pula mempergunakan medium bismuth sulfit. Untuk lebih spesifik, isolasi dapat dilakukan pada medium selektif, seperti agar *Salmonella-shigella* (agar SS) ataupun *agar enteric Hectoen* yang baik untuk pertumbuhan *Salmonella* dan *Shigella*. Media pembiakan yang direkomendasikan untuk *S. typhi* adalah media empedu (gall) dari sapi, yang mana media gall ini dapat meningkatkan positifitas hasil karena hanya *S. typhi* dan *S. paratyphi* yang dapat tumbuh

pada media tersebut. Pada media SSA (*Salmonella Shigella Agar*) *S. typhi* akan membentuk koloni hitam (*black jet*) karena bakteri ini menghasilkan H₂S (Sucipta,A.,2015). Pada agar SS, Endo, EMB, dan *MacConkey*, koloni kuman berbentuk bulat, kecil, dan tidak berwarna, sedangkan pada agar *Wilson-Blair*, koloni kuman berwarna hitam. Pada media BAP (*Blood Agar Plate*) menyebabkan hemolisis.

PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI KUMAN *Salmonella* sp.

D. TUJUAN

Untuk mengidentifikasi bakteri *Salmonella* sp. berdasarkan sifat-sifatnya pada berbagai media.

E. KOMPETENSI

Kompetensi yang ingin dicapai pada materi ini adalah

1. Dapat melakukan persiapan alat, bahan, reagen untuk identifikasi *Salmonella* sp.
2. Dapat melakukan pemeriksaan identifikasi *Salmonella* sp.
3. Dapat melakukan cara interpretasi hasil dan verifikasi hasil identifikasi *Salmonella* sp.

F. ALAT

- | | |
|------------------|------------------------------|
| 1. Ose bulat | 10. Cawan petri |
| 2. Ose jarum | 11. Erlenmeyer |
| 3. Pipet Pasteur | 12. Gelas ukur |
| 4. Tabung reaksi | 13. Rak tabung |
| 5. Korek api | 14. Wadah api spirtus |
| 6. Incubator | 15. Beaker glass |
| 7. Objek glass | 16. Spatula |
| 8. Mikroskop | 17. Kawat kasa dan kaki tiga |
| 9. Autoklaf | |

G. BAHAN

- | | |
|---|--|
| 1 Media <i>Mac Conkey</i> (MC) | 9 Reagen <i>Methyl Red</i> |
| 2 Media <i>Salmonella Shigella Agar</i> (SSA) | 10 Reagen Pewarnaan Gram (carbol gentian violet, lugol, alkohol96%, safranin) |
| 3 Media Selenite Brot | 11 Spirtus |
| 4 Media rekasi biokimia (TSIA, Gula-gula, Indol, VP, MR, Simon Citrate, Semi Solid, Urea) | 12 Kertas pH |
| 5 Suspensi kuman <i>Salmonella</i> | 13 Aquades |
| 6 Reagen Indol (kovac) | 14 Kapas, Kasa, tissue lens dan Tissue |
| 7 Alpha naftol 5% | 15 NaOH 0,1N dan |
| 8 KOH 40% | 16 HCL 0,1N |

H. CARA KERJA

Hari Pertama :

1. Siapkan alat dan bahan yang telah diseteril dan bersih di atas meja praktikum.
2. Lakukan pembuatan preparat dari suspensi kuman pada media perbenihan *selenite broth*
3. Lakukan pewarnaan Gram bakteri. Lalu dilakukan pengamatan dengan lensa objektif 100x
4. Lakukan penanaman sampel kuman pada MC dan SSA jika hasil pewarnaan ditemukan kuman basil (teknik gores T atau Y)
5. Inkubasi pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hari Kedua :

1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
2. Ambil media MC dan SSA dari inkubator yang telah ditanami kuman selama 24 jam pada suhu 37°C.
3. Lakukan karakterisasi morfologi koloni kuman pada media MC dan SSA meliputi Bentuk koloni, warna koloni, tekstur koloni, tepian koloni, permukaan koloni, sifat koloni dan indikator media (jika ada)
4. Lakukan penanaman pada media reaksi biokimia dengan mengambil 1 koloni tunggal dari media MC dan SSA pada media reaksi biokimia :

a. Media Cair

1. Media Gula-gula : glukosa, sukrosa, laktosa, maltose, dan mannose.
2. Air peptone (indol)
3. Media VP
4. Media MR

Ambil 1 mata ose bulat dari satu koloni kuman. Lalu tanam berurutan dari 1 mata ose tadi tanpa mengambil kuman lagi.

b. Media Simon Citrat dan Urea

Lakukan setelah ose terakhir di media MR dilanjutkan ke media Simon citrate dan urea dengan teknik gores zig-zag

c. Media TSIA dan Semi Solid

Ambil 1 mata ose jarum dari koloni yang sama dengan pengambilan ose bulat. Lalu tanam berurutan TSIA ke Semi Solid.

5. Lakukan inkubasi media reaksi biokimia yang telah ditanami dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

Hari Ketiga :

Amati dan catat hasil penanaman pada media reaksi biokimia. Untuk media VP, MR dan Indol harus ditetesi terlebih dahulu dengan reagen :

1. Indol dengan reagen kovac sebanyak 2 tetes
2. MR dengan reagen methyl red sebanyak 2-3 tetes
3. VP dengan reagen KOH sebanyak 1 tetes dan Alpha naftol sebanyak 3 tetes.

Unit Kompetensi yang dinilai :

No.	Unit Kompetensi	Bobot	Nilai (10-100)
1.	Melakukan persiapan alat dan reagen	3	
2.	Melakukan Pemeriksaan	3	
3.	Melakukan Interpretasi dan Verifikasi Hasil	3	
4.	Melakukan Pelaporan Hasil	2	
5.	Perilaku Profesional	2	

Penutup

Kuman Salmonella berbentuk batang, tidak berkapsul (Kecuali *S.typhi*) tidak berspora, bersiat Gram negative, berukuran 1-3,5 um x 0,5-0,8 um, besar koloni rata-rata 2-4 mm, mempunyai flagel peritrik Kuman Salmonella tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif, pada suhu 15-41°C (suhu pertumbuhan optimum 37,5°C) dan pH pertumbuhan 6-8. Untuk mendeteksi *S.typhi* dengan cepat dapat pula mempergunakan medium *boismuth sulfite*. Untuk lebih spesifik, isolasi dapat dilakukan pada medium selektif seperti agar Salmonella Shigella (SSA) ataupun *agar enteric Hectoen* yang baik untuk pertumbuhan Salmonella dan Shigella.

Evaluasi

Kerjakanlah latihan berikut untuk memperdalam pemahaman anda terhadap materi praktikum di atas!

1. Jelaskan perbedaan koloni Salmonella dan Shigella pada media *Mac Conkey*!
2. Jelaskan perbedaan uji biokimia Salmonella thypi, Salmonella parathypi A, Salmonella parathypi B dan Salmonella parathypi C!
3. Jelaskan tentang produksi H₂S dari uji TSIA golongan Salmonella!
4. Jelaskan mengapa koloni Salmonella pada media MC berwarna jernih atau transparan!
5. Jelaskan perbedaan media selektif Salmonella Shigella Agar dengan media yang lain pada Praktikum Kali ini (dari proses pembuatan, komposisi dan lain-lain)!

JURNAL PRAKTIKUM

PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI KUMAN *Salmonella* sp.

Judul Praktikum : Nama :

Tanggal Praktikum : NIM :

HARI PERTAMA

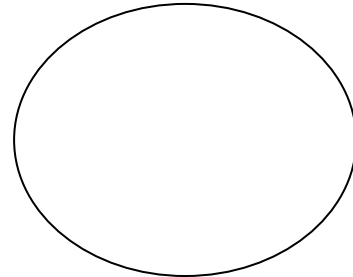
Hasil Pewarnaan Gram

Bentuk sel :

Susunan :

Warna sel :

Sifat Gram :



HARI KEDUA

Hasil Pengamatan

Media	Morfologi Koloni
MC	Bentuk koloni: Tepian : Permukaan : Tekstur : Warna Koloni: Sifat Fermentasi : Fermenter laktosa atau non-fermenter laktosa (*)
SSA	Bentuk koloni: Tepian : Permukaan : Tekstur : Warna Koloni:

HARI KETIGA

Hasil pemeriksaan biokimia reaksi di hari ketiga

Spesies bakteri	TSIA				Gula-Gula					indol	Vp	Mr	cit	Urea	Motil
	Lrg	Dsr	Gas	H ₂ S	glu	lak	suk	mal	man						

Perhitungan persentase

$$\frac{x}{y} \times 100\%$$

—

Keterangan:

X : Jumlah Pemeriksaan Tabel yang benar

Y : Jumlah Seluruh Pemeriksaan Tabel

Kebenaran (%)	Kesalahan (%)

Kesimpulan :

.....

.....

.....

Praktikan

Pembimbing Praktikum

(.....)

(.....)

4. *Shigella* sp.

Pendahuluan

Penyakit disentri merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Disentri basiler biasanya dialami oleh anak-anak. Kuman penyakit ini, yaitu *Shigella*, disebarkan dari satu individu ke individu lain melalui makanan dan air yang tercemar atau oleh lalat. Kuman penyakit ini masuk langsung ke dalam pencernaan dan hidup dalam usus besar manusia serta menyebabkan luka pada dinding usus. Penyakit ini biasanya menyerang dengan tiba-tiba sekitar dua hari setelah infeksi kuman *Shigella*. Setelah itu akan timbul demam, nafsu makan hilang, mual, muntah, diare, nyeri perut, disertai kembung, dan pada anak cenderung rewel serta mudah mengantuk. Dua hingga tiga hari kemudian, tinja encer 20-30 kali sehari sehingga ia bisa kekurangan cairan. Pada tingkatan yang parah, infeksi semakin hebat dan dapat menyebabkan kematian. *Shigella* termasuk jenis bakteri yang cukup penting karena dapat menimbulkan ancaman kesehatan di masyarakat, khususnya di negara-negara berkembang. Akumulasi bakteri *Shigella* di tubuh hospes menyebabkan kondisi yang dikenal sebagai Shigelosis. Dosis yang efektif kurang dari 10³ organisme. Jika tidak diobati, infeksi ini dapat mematikan.

Klasifikasi *Shigella* sp.

Klasifikasi ilmiah bakteri *Shigella* sp. adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Shigella</i>
Species	: <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> , <i>Shigella sonnei</i>

Shigella sp. organisme yang tidak memfermentasi laktosa dan tidak memiliki flagella (*non motil*) dilakukan uji manitol. Apabila hasilnya negatif maka termasuk ke dalam *Shigella dysenteriae*. sedangkan hasilnya positif maka akan dilanjutkan dengan uji

fermentasi laktosa. Apabila mampu memfermentasi laktosa maka termasuk ke dalam *Shigella sonnei*. Sedangkan yang tidak memfermentasi laktosa akan dilanjutkan dengan uji indol. Indol negatif maka termasuk spesies *shigella boydii* dan indol positif termasuk spesies *shigella flexneri*.

Morfologi

Shigella adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang (basil), *non-motil*, tidak membentuk spora, tidak berkapsul, hidup optimal pada suhu 37°C, dan bersifat patogenik. *Shigella* bersifat anaerob fakultatif, tetapi paling baik tumbuh di lingkungan aerobik.

Fisiologi

Koloninya berbentuk cembung (*konveks*), bulat, transparan dengan pinggiran utuh, dan mencapai diameter kira-kira 2 mm dalam 24 jam. Bakteri ini mampu bertahan hidup di lingkungan yang terkontaminasi dan di lingkungan asam seperti saluran cerna manusia.

Shigella memfermentasi berbagai jenis karbohidrat, kecuali laktosa. *Shigella* memfermentasi glukosa melalui fermentasi asam campuran, tetapi tidak menghasilkan gas. Spesimen ditanam pada media differensial (misal agar *MacConkey* atau agar EMB) dan media selektif (agar *Hektoen enterik* atau agar *Salmonella - Shigella*), yang dapat menekan *Enterobacteriaceae* dan organisme lain. Koloni tak berwarna (laktosa-negatif) ditanamkan pada agar *triple sugar iron*. Organisme yang tidak memproduksi H₂S pada medium agar triple sugar iron. *Shigella* tidak menghasilkan H₂S, *fenilalanin deaminase*, atau urease dan tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal.

PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI KUMAN *Shigella* sp.

A. TUJUAN

Untuk mengidentifikasi bakteri *Shigella* sp. berdasarkan sifat-sifatnya pada berbagai media.

B. KOMPETENSI

Kompetensi yang ingin dicapai pada materi ini adalah

1. Dapat melakukan persiapan alat, bahan, reagen untuk identifikasi *Shigella* sp.
2. Dapat melakukan pemeriksaan identifikasi *Shigella* sp.
3. Dapat melakukan interpretasi hasil dan verifikasi hasil identifikasi *Shigella* sp.

C. ALAT

- | | |
|------------------|------------------------------|
| 1. Ose bulat | 10. Cawan petri |
| 2. Ose jarum | 11. Erlenmeyer |
| 3. Pipet Pasteur | 12. Gelas ukur |
| 4. Tabung reaksi | 13. Rak tabung |
| 5. Korek api | 14. Wadah api spirtus |
| 6. Incubator | 15. Beaker glass |
| 7. Objek glass | 16. Spatula |
| 8. Mikroskop | 17. Kawat kasa dan kaki tiga |
| 9. Autoklaf | |

D. BAHAN

- | | |
|--|---|
| 1. Media Mac Conkey (MC) | 9. Reagen Methyl Red |
| 2. Media Salmonella Shigella Agar | 10. Reagen Pewarnaan Gram |
| 3. Media Selenite Broth | (carbol gentian violet, lugol, |
| 4. Media rekasi biokimia (TSIA, Gula-gula, Indol, VP, MR, Simon Citrate, Semi Solid, Urea) | alcohol 96%, safranin) |
| 5. Suspensi kuman <i>Shigella</i> sp | 11. Spirtus |
| 6. Reagen Indol (kovac) | 12. Kertas pH |
| 7. Alpha naftol 5% | 13. Aquades |
| 8. KOH 40% | 14. Kapas, Kasa, tissue lens dan Tissue |
| | 15. NaOH 0,1N dan HCL 0,1N |

E. CARA KERJA

Hari Pertama :

1. Siapkan alat dan bahan yang telah disteril dan bersih di atas meja praktikum.
2. Lakukan pembuatan preparat dari suspensi kuman *Shigella* sp. pada media perbenihan selenite broth yang telah dibiakkan.
3. Lakukan pewarnaan Gram bakteri. Lalu dilakukan pengamatan dengan lensa objektif 100x
4. Lakukan penanaman sampel kuman pada MC dan SSA jika hasil pewarnaan ditemukan kuman basil (teknik gores T atau Y)
5. Inkubasi media pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hari Kedua :

1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
2. Ambil media MC dan SSA dari inkubator yang telah ditanami kuman selama 24 jam pada suhu 37°C.
3. Lakukan karakterisasi morfologi koloni kuman pada media MC dan SSA meliputi Bentuk koloni, warna koloni, tekstur koloni, tepian koloni, permukaan koloni, sifat koloni dan indikator media (jika ada)
4. Lakukan penanaman pada media reaksi biokimia dengan mengambil 1 koloni tunggal dari media MC dan SSA pada media reaksi biokimia :

a. Media Cair

1. Media Gula-gula : glukosa, sukrosa, laktosa, maltose, dan mannose.
2. Air peptone (indol)
3. Media VP
4. Media MR

Ambil 1 mata ose bulat dari satu koloni kuman. Lalu ditanam berurutan dari 1 mata ose tadi tanpa mengambil kuman lagi.

b. Media Simon Citrat dan Urea

Lakukan setelah ose terakhir di media MR dilanjutkan ke media Simon citrate dan urea dengan teknik gores zig-zag

c. Media TSIA dan Semi Solid

Ambil 1 mata ose jarum dari koloni yang sama dengan pengambilan ose bulat. Lalu tanam berurutan TSIA ke Semi Solid.

5. Lakukan inkubasi Media reaksi biokimia yang telah ditanami dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

Hari Ketiga :

Amati dan catat hasil penanaman pada media reaksi biokimia. Untuk media VP, MR dan Indol harus ditetesi terlebih dahulu dengan reagen :

1. Indol dengan reagen kovac sebanyak 2 tetes
2. MR dengan reagen methyl red sebanyak 2-3 tetes
3. VP dengan reagen KOH sebanyak 1 tetes dan Alpha naftol sebanyak 3 tetes.

Unit Kompetensi yang dinilai :

No.	Unit Kompetensi	Bobot	Nilai (10-100)
1.	Melakukan persiapan alat dan reagen	3	
2.	Melakukan Pemeriksaan	3	
3.	Melakukan Interpretasi dan Verifikasi Hasil	3	
4.	Melakukan Pelaporan Hasil	2	
5.	Perilaku Profesional	2	

Penutup

Shigella adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang (basil), non-motil, tidak membentuk spora, tidak berkapsul, hidup optimal pada suhu 37°C, dan bersifat patogenik. *Shigella* bersifat anaerob fakultatif, tetapi paling baik tumbuh di lingkungan aerobik. Koloninya berbentuk cembung (*konveks*), bulat, transparan dengan pinggiran utuh, dan mencapai diameter kira-kira 2 mm dalam 24 jam. Bakteri ini mampu bertahan hidup di lingkungan yang terkontaminasi dan di lingkungan asam seperti saluran cerna manusia.

Evaluasi

Kerjakanlah latihan berikut untuk memperdalam pemahaman anda terhadap materi praktikum di atas!

1. Jelaskan perbedaan koloni *Salmonella* dan *Shigella* pada media *Mac Conkey*!
2. Jelaskan perbedaan media selektif *Salmonella Shigella Agar* dengan media yang lain pada praktikum kali ini (dari proses pembuatan, komposisi dan lain-lain)!

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI KUMAN *Shigella* sp.

Judul Praktikum : Nama :

Tanggal Praktikum : NIM :

▪

HARI PERTAMA

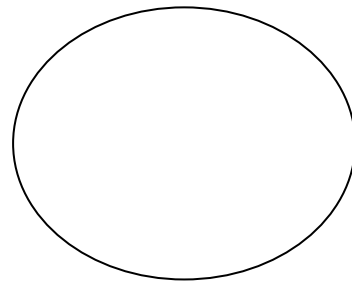
Hasil Pewarnaan Gram

Bentuk sel :

Susunan :

Warna sel :

Sifat Gram :



HARI KEDUA

Hasil Pengamatan

Media	Morfologi Koloni
MC	Bentuk koloni: Tepian : Permukaan : Tekstur : Warna Koloni: Sifat Fermentasi : Fermenter laktosa atau non-fermenter laktosa (*)
SSA	Bentuk koloni: Tepian : Permukaan : Tekstur : Warna Koloni:

HARI KETIGA

Hasil pemeriksaan biokimia reaksi di hari ketiga

Spesies bakteri	TSIA				Gula-Gula					indol	Vp	Mr	cit	Urea	Motil
	Lrg	Dsr	Gas	H ₂ S	glu	lak	suk	Mal	man						

Perhitungan persentase

$$\frac{X}{Y} \times 100\%$$
Keterangan:
X : Jumlah Pemeriksaan Tabel yang benar
Y : Jumlah Seluruh Pemeriksaan Tabel

Kebenaran (%)	Kesalahan (%)

Kesimpulan :

.....

.....

.....

Praktikan

Pembimbing Praktikum

(.....)

(.....)

5. *Proteus mirabilis*

Identifikasi *Proteus sp*

A. PENDAHULUAN

Proteus sp merupakan bakteri bentuk batang pendek – panjang, ada yang cocobacilli, polimorf, tidak berspora, tidak berkapsul, bergerak aktif, berpasangan atau membentuk rantai bersifat gram negative. Sifat biokimia bakteri ini menunjukkan reaksi hasil positif pada uji motility, pheylalanin atau tryptophan deaminase, methyl red. Reaksi hasil negative pada uji ONPG, fermentasi lactose, Voges – proskauer, lysine decarboxylase, arginin dihydrolisa, malonate broth. Pada tes kepekaan terhadap polymixin/colistin menunjukkan hasil resisten

Bakteri ini menimbulkan infeksi pada manusia hanya bila keluar dari saluran pencernaan. Organisme ini ditemukan pada infeksi saluran kemih dan menimbulkan bakteremia, pneumonia dan infeksi fokal pada pasien yang lemah atau pada pasien yang menerima infus secara intravena *Proteus mirabilis* menyebabkan infeksi saluran kemih dan kadang – kadang infeksi lainnya. *Proteus vulgaris* dan *Morganella morganii* merupakan pathogen nosocomial yang penting

Proteus sp menghasilkan urease yang mengakibatkan hidrolisis urea secara cepat dan membebaskan ammonia. Karena itu, pada infeksi saluran kemih akibat Proteus, urine bersifat basa, sehingga memudahkan pembentukan batu dan membuat pengasaman hampir tidak mungkin. Motilitas Proteus yang cepat membantu invasinya ke saluran kemih.

Sensitivitas strain Proteus terhadap antibiotik sangat bervariasi. *P. mirabilis* sering dihambat oleh penisilin. Antibiotik yang paling aktif untuk anggota lain dari kelompok ini adalah aminoglikosida dan sefalosporin

B. PRAKTIKUM

1. Pra – Analitik, meliputi :

a. Persiapan alat, media agar dan media cair

➤ Alat yang diperlukan pada identifikasi bakteri *Proteus sp* antara lain :

- lampu spiritus
- ose
- Objek glas

- *Incubator*
- *tabung reaksi untuk membuat gula – gula*
- *cawan petri*
- *korek api*

➤ Media agar yang diperlukan untuk identifikasi bakteri ini meliputi antara lain :

Mac Conkey agar/Blood agar plate

➤ Media cair dan semi solid :

- *TSB*
- *Glukosa*
- *Laktosa*
- *Manosa*
- *Maltose*
- *Sukrosa*
- *Air pepton*
- *Voges Proskauer*
- *SIM medium*
- *Simmon citrat agar*
- *TSIA*
- *Urease*

b. Pengambilan sampel

- *Darah*
- *Faeses*
- *Urine*
- *Pus*
- *Air*
- *Makanan*

2. Analitik

Langkah – langkah Identifikasi meliputi :

- *Pemeriksaan Mikroskopis*
- *Pembiakan*
- *Uji Biokimia*

Cara pemeriksaan :

↔ Hari I

Meliputi pemeriksaan mikroskopis dan pembiakan

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan pengecatan gram dari sampel :

Pembuatan sediaan apus dengan pengecatan gram

Cara kerja

- a. Siapkan objek glass yang bersih, ambil sampel menggunakan ose, buatlah sediaan apus pada bagian tengah objek glas yang sudah diberi tanda. Apabila sampel tersedia pada lidi kapas, kaca objek harus disterilkan dahulu dengan cara dilewatkan pada nyala api lampu spiritus dan dibiarkan mendingin. Lidi kapas kemudian digulirkan perlahan pada permukaan kaca, tanpa menggosok atau memberi tekanan yang berlebihan.
- b. Biarkan sediaan kering di udara, kalau sudah kering lakukan fiksasi
- c. Lakukan pengecatan gram
- d. Periksa di mikroskop pada perbesaran 10 x 100 menggunakan minyak imersi

Pemeriksaan mikroskopik dari bahan langsung (direct-preparate), hasilnya sebagai berikut:

- Pengecatan Gram : Gram negatif, bentuk batangnya pendek-panjang berpasangan atau berderet.

Pembiakan :

Sampel ditanam pada media enrichment (penyubur) bisa menggunakan BHI (Brain Heart Infusion) atau TSB (Tryptic Soy Broth). Dan ditanam pada media blood agar plate dan Mac Conkey agar plate Kemudian diinkubasi di incubator suhu 37°C selama 24 jam

↔ Hari II

Koloni tersangka *Proteus* sp :

- Blood agar plate : koloni kecil – sedang, abu - abu, smooth, keeping, ada yang menjalar ada yang tidak menjalar, anhemolytic
- Mac Conkey agar plate : koloni sedang-besar, tidak berwarna atau berwarna merah Muda, non lactose fermented, smooth, ada yang menjalar ada yang tidak menjalar, permukaan koloni kasar (rough)

Catatan : untuk menghilangkan Swarming, blood agar sebelum ditanami digenangi alkohol 95% beberapa menit, kemudian dikeringkan sebelum ditanami.

Koloni tersangka *Proteus* sp pada blood agar plate dan Mac Conkey agar plate ditanam pada media gula – gula lengkap (glukosa, laktosa, manosa, maltose, sukrosa) IMVIC air pepton (uji Indol), MR (Methyl Red), VP (Voges Proskauer), Citrat). SIM (Sulfit Indol Mortility). TSIA (Triple Sugar Iron Agar), urease

Diinkubasi 37°C selama 24 jam di inkubator

↔ Hari III

Dilakukan pembacaan hasil pertumbuhan pada media gula – gula dan media identifikasi serta dikerjakan tes kimia.

Hasil kemudian dicocokkan dengan ciri – ciri dan tabel untuk *Proteus* sp

Uji Biokimia

Tabel 6 Biokimia *Proteus* sp

	<i>Proteus. Vulgaris</i>	<i>Proteus. Mirabilis</i>
Glukosa	+g	+g
Laktosa	-	+/-
Mannosa	-	-
Maltosa	+	-
Sukrosa	+	-
H ₂ S	+	+
Indol	+	-
Motil	+	+
Citrat	+/-	+/-
Urease	+	+
MR	+	+
VP	-	-
Phenylalanine	+	+
ONPG	-	-
Lysine decarboxylase	-	-
Malonat broth	-	-
Arginin dihidrolisa	-	-

3. Pasca Analitik

Kegiatan pada tahap ini meliputi :

- Membuat kesimpulan
- Membuat laporan hasil identifikasi
- Merapikan alat dan bahan yang telah selesai digunakan

C. EVALUASI

Tes :

1. Mahasiswa diminta membedakan hasil reaksi biokimia *Proteus mirabilis* dengan *Proteus vulgaris*
2. Mahasiswa diminta melakukan pemeriksaan sampel urine dari pasien wanita tersangka ISK, klinisi meminta anda melakukan identifikasi untuk mengetahui spesies bakteri penyebabnya, secara mikroskopik dengan pengecatan gram diperoleh bakteri bentuk batang pendek – panjang, ada yang cocobacilli, polimorf, gram negatif. Apakah jenis media dan tes biokimia yang digunakan untuk mengetahui spesies bakteri penyebabnya?
3. Mahasiswa diminta melakukan pemeriksaan sampel urine dari pasien wanita tersangka ISK, pembimbing meminta anda melakukan identifikasi untuk mengetahui spesies bakteri penyebabnya, secara mikroskopik dengan pengecatan gram diperoleh bakteri bentuk batang pendek – panjang, ada yang cocobacilli, polimorf, gram negative. Apakah ciri – ciri koloni bakteri penyebab pada media agar Mc Conkey dan BAP?
4. Mahasiswa diminta melakukan identifikasi bakteri pada sampel faeces penderita diare hasil uji biokimia menunjukkan glukosa pos, laktosa, manosa, manitol dan sukrosa neg, indol neg, motility pos, MR pos, citrate neg/pos, H₂S pos, urease pos apakah spesies bakteri tersebut

Lembar penilaian psikomotor

Diskripsi	1	2	3	4
Hasil Pengecatan	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Bentuk bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Bentuk bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Bentuk bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Bentuk bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat

Hasil Identifikasi	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula – gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula – gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula – gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula – gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar
--------------------	--	--	--	--

Lembar penilaian Afektif

Diskripsi	1	2	3	4
Berperilaku Profesional	Mahasiswa tidak melakukan tindakan sama sekali	Mahasiswa melakukan 1-2 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik 6. Mengumpulkan jurnal sesuai ketentuan	Mahasiswa melakukan 3-5 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik 6. Mengumpulkan jurnal sesuai ketentuan	Mahasiswa melakukan 6 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik 6. Mengumpulkan jurnal sesuai ketentuan

D. PENUTUP

Ringkasan

Proteus sp merupakan bakteri bentuk batang yang bersifat gram negative, pertumbuhan pada media agar cenderung membentuk swarming, secara biokimia bakteri ini memecah

urea dengan cepat, untuk membedakan spesies *Proteus mirabilis* dengan *Proteus vulgaris* didasarkan fermentasi pada gula – gula maltosa pada *P. mirabilis* negative dan *P. vulgaris* positif.

JURNAL PRAKTIKUM

JUDUL: IDENTIFIKASI.....

NAMA :

TANGGAL :

TTD :

"NO. BAHAN :

Hari I :

Dari media enrichment/pengaya.....dilanjutkan :

1. Isolasi

Bahan pemeriksaan ditanam pada media :

a.

b.

dieramkan 37°C selama satu malam (18-24 jam)

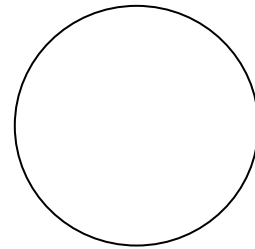
2. Pewarnaan Gram

Hasil :

Perbesaran.....

Sampel

- Bentuk :.....
- Warna :.....
- Susunan :.....
- Sifat :.....



Hari II :

3. Pengamatan hasil isolasi :

	Media :	Media :	Media :
Bentuk			
Warna			
Ukuran			
Elevasi			
Permukaan			
Sifat			

4. Uji biokimia

Koloni tersangka ditanam pada media uji Biokimia Koloni tersangka ditanam pada media uji Biokimia Glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sakarosa, air pepton, MR/VP, citrat, SIM, TSIA. Diinkubasi pada inkubator suhu 37°C selama 24 jam.

Hari III :

5. Pengamatan hasil penanaman pada media uji Biokimia

Hasil :

Glukosa :

Laktosa :

Manitol :

Maltosa :

Sakarosa :

IMVIC

● Indol :

● Methyl Red :

● Veges Proskauer :

● Citrat :

SIM -Sulfit :

-Indol :

-Mortility :

TSIA : /....., gas..... H₂S.....

6. Uji serologi

Hasil:

Kesimpulan :

Dari bahan nomor :----- didapatkan bakteri :

Dari bahan nomor :----- didapatkan bakteri :

Pembahasan :

Praktikan

Pembimbing,

()

()

6. *Acinetobacter baumannii*

A. PENDAHULUAN

Spesies *Acinetobacter* merupakan bakteri aerob gram negative yang tersebar luas di dalam tanah, debu, udara dan air serta kadang – kadang dapat dibiakkan dari kulit, membrane mukosa, secret dan lingkungan rumah sakit. *Acinetobacter baumannii* adalah spesies yang paling sering diisolasi. Kadang – kadang *A. lwoffii*, *A. johnsonii*, *A. haemolyticus* dan spesies lainnya juga diisolasi. *Acinetobacter* secara morfologi berbentuk batang pendek/ kokobasil atau mirip kokus, menyerupai *Neisseria* pada sediaan apus, berpasangan, membentuk rantai pendek, tidak bergerak, tidak berspora, tidak berkapsul. Pada kultur muda bakterinya tahan dekolorisasi sehingga sebagian badan bakteri kelihatan gram (+) tumbuh dengan baik pada sebagian besar jenis medium yang digunakan untuk membiakkan specimen dari pasien. Pada suasana aerob dan bersifat non lactose fermented. Untuk membedakan dengan *Neisseria* dilakukan uji oksidase karena *Neisseria* oksidase positif sedangkan *Acinetobacter* oksidase negatif

Acinetobacter sering menjadi bakteri komensal tetapi kadang – kadang menyebabkan infeksi nosocomial. *A. baumannii* telah diisolasi dari darah, sputum, kulit, cairan pleura, dan urine. Biasanya pada infeksi yang terjadi akibat penggunaan instrument medis. *Acinetobacter* yang ditemukan pada pneumonia nosocomial sering berasal dari air alat pelembab udara atau alat penguap ruangan. Pada pasien dengan bakteremia akibat *Acinetobacter*, kateter intravena hampir selalu menjadi sumber infeksi. Pada pasien luka bakar atau defisiensi imun bakteri ini berperan sebagai pathogen oportunistik dan dapat mengakibatkan sepsis.

Strain *Acinetobacter* sering resisten terhadap obat – obatan antimikroba dan terapi untuk infeksiya dapat sulit dilakukan. Uji sensitivitas harus dilakukan untuk membantu pemilihan obat antimikroba yang terbaik untuk terapi. Pada pasien dengan bakteremia *Acinetobacter*, penggunaan kateter intravena hampir selalu menjadi sumber infeksi. Pada pasien dengan luka bakar atau defisiensi imun, *Acinetobacter* bertindak sebagai patogen oportunistik dan dapat menghasilkan sepsis. Pada banyak kasus antimikroba colistin yang paling aktif, antimikroba lain yang sering direspon antara lain gentamisin, amikasin, tobramisin, dan penisilin spectrum yang diperpanjang serta sefalosporin golongan baru.

B. PRAKTIKUM

1. Pra – Analitik, meliputi :

a. Persiapan dan pembuatan media agar dan media cair

➤ Alat yang diperlukan pada identifikasi bakteri *Acinetobacter baumannii* antara lain :

- Lampu spiritus
- Ose
- Objek gelas
- Incubator
- Tabung reaksi untuk membuat gula – gula
- Cawan petri
- Korek api

➤ Media agar yang diperlukan untuk identifikasi bakteri ini meliputi antara lain :

- *Mac Conkey agar/Blood agar plate*
- Media cair dan semi solid
 - TSB
 - Glukosa
 - Laktosa
 - Manosa
 - Maltose
 - Sukrosa
 - Air Pepton
 - Voges Proskauer
 - Sim Medium
 - Simon Citrat Agar
 - TSIA
 - Urease
 - Malonat broth
 - Reduksi nitrat
 - Dekarboksilase
 - Deaminase
 - Onpg
 - Okdidase

b. Pengambilan sampel

Darah, Faeses, Urine, Pus, Air, Makanan

2. Analitik

Langkah – langkah Identifikasi meliputi :

- Pemeriksaan Mikroskopis
- Pembiakan
- Uji Biokimia

Cara kerja

Pemeriksaan Mikroskopis

Pembuatan sediaan apus dengan pengecatan gram

Cara kerja :

- a. Siapkan objek glass yang bersih, ambil sampel menggunakan ose, buatlah sediaan apus pada bagian tengah objek glas yang sudah diberi tanda. Apabila sampel tersedia pada lidi kapas, kaca objek harus disterilkan dahulu dengan cara dilewatkan pada nyala api lampu spiritus dan dibiarkan mendingin. Lidi kapas kemudian digulirkan perlahan pada permukaan kaca, tanpa menggosok atau memberi tekanan yang berlebihan.
- b. Biarkan sediaan kering di udara, kalau sudah kering lakukan fiksasi
- c. Lakukan pengecatan gram
- d. Periksa di mikroskop pada perbesaran 10 x 100 menggunakan minyak imersi

Pemeriksaan mikroskopik dari bahan langsung (direct-preparate), hasilnya sebagai berikut:

- Pengecatan Gram : Gram negatif, bentuk batang, pendek-panjang, ada yang coccobacilli, berpasangan atau membentuk rantai

1. Pembiakan

Sampel ditanam pada media enrichment (pengaya) TSB dan ditanam pada media agar yang tersedia

Perbenihan yang dipakai:

- Blood agar plate : koloni bulat, cembung, keruh, kecil – sedang, smooth, kadang – kadang mukoid, haemolytic/ anhemolytic
- Mac Conkey agar plate : koloni kecil - kecil, tidak berwarna atau rose, smooth, keruh, bulat , non lactose fermented

Tabel 7 Hasil Uji Biokimia *Acinetobacter baumannii*

Uji Biokimia	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Citrat	+
Malonate broth	+
Katalase	+
Reduksi nitrat	-
Hydrogen sulfide	-

Dekarboksilase deaminase	-
ONPG	-
Oksidase	-
Urease	-

Koloni tersangka ditanam pada media gula – gula panjang :

- Glukosa
- Laktosa
- Manitol
- Maltose
- Sakarosa
- Air peptone
- VP/MR
- Simon Citrate
- SIM
- TSIA
- Urea

2. Pasca Analitik

Kegiatan pada tahap ini meliputi :

- a. Membuat kesimpulan
- b. Membuat laporan hasil identifikasi
- c. Membereskan alat dan bahan yang telah selesai digunakan

C. EVALUASI

Tugas :

1. Mahasiswa diminta melakukan resume langkah – langkah identifikasi bakteri *Acinetobacter baumannii* dari sampel yang berbeda dari yang sudah dipraktikan

Tes :

1. Sebutkan jenis sampel untuk pemeriksaan bakteri *A. baumannii* minimal 4
2. Tuliskan *hasil reaksi biokimia A. baumannii*
3. Mahasiswa diminta melakukan pemeriksaan sampel darah dari pasien yang sudah 2 hari menderita demam tinggi karena bakteremia, pasien tersebut sedang dirawat di rumah sakit dan menggunakan kateter intravena klinisi meminta anda melakukan identifikasi untuk mengetahui spesies bakteri penyebabnya, secara mikroskopik dengan pengecatan gram diperoleh bakteri bentuk batang pendek menyerupai kokus dan tersusun berpasangan, gram negative. Apakah spesies bakteri penyebabnya?

4. Mahasiswa diminta melakukan identifikasi spesies bakteri dari sampel urine pada pasien tersangka ISK, hasil pemeriksaan mikroskopis menunjukkan kokobasil mirip diplokokus, gram negatif. Hasil kultur pada media Mc Conkey agar menunjukkan koloni kecil - kecil, tidak berwarna atau rose, smooth, keruh, bulat, non lactose fermented, Bagaimana cara anda memastikan bahwa bakteri penyebab bukan Neisseria

Lembar Penilaian Psikomotor

Diskripsi	1	2	3	4
Hasil Pengecatan	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Bentuk bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Bentuk bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Bentuk bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Bentuk bakteri 2. Warna sel bakteri merah 3. Latar belakang merah muda 4. Tidak ada kotoran cat
Hasil Identifikasi	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula- gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula- gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula- gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan koloni 2. Pembacaan uji gula- gula dan IMViC 3. Menyimpulkan benar

Lembar penilaian Afektif

Diskripsi	1	2	3	4
Berperilaku Profesional	Mahasiswa tidak melakukan tindakan sama sekali	Mahasiswa melakukan 1-2 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan	Mahasiswa melakukan 3-5 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan	Mahasiswa melakukan 6 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan

		4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik 6. Mengumpulkan jurnal sesuai ketentuan	4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik 6. Mengumpulkan jurnal sesuai ketentuan	4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik 6. Mengumpulkan jurnal sesuai ketentuan
--	--	---	---	---

D. PENUTUP

Ringkasan

Acinetobacter baumannii merupakan bakteri batang pendek/kokobasil atau kokus, menyerupai *Neisseria* pada sediaan apus, berpasangan, membentuk rantai pendek, tidak bergerak, tidak berspora, tidak berkapsul. tumbuh dengan baik pada sebagian besar jenis medium yang digunakan untuk membiakkan specimen dari pasien, Pada suasana aerob dan bersifat non lactose fermented. Untuk membedakan dengan *Neisseria* dilakukan uji oksidase karena *Neisseria* oksidase positif sedangkan *Acinetobacter* oksidase negatif.

JURNAL PRAKTIKUM

JUDUL : IDENTIFIKASI..... NAMA:

TANGGAL : TTD :

"NO. BAHAN :

Hari I :

Dari media enrichment/pengaya.....dilanjutkan :

1. Isolasi

Bahan pemeriksaan ditanam pada media :

- a.
- b.
- c.

dieramkan 37°C selama satu malam (18-24 jam)

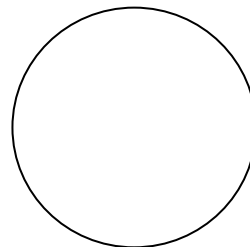
2. Pewarnaan Gram

Hasil :

Sampel

Perbesaran

- Bentuk :.....
- Warna :.....
- Susunan :.....
- Sifat :.....



Hari II :

3. Pengamatan hasil isolasi :

	Media :	Media :	Media :
Bentuk			
Warna			
Ukuran			
Elevasi			
Permukaan			
Sifat			

4. Uji biokimia

Koloni tersangka ditanam pada media uji Biokimia Koloni tersangka ditanam pada media uji Biokimia Glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sakarosa, air pepton, MR/VP, citrat, SIM, TSIA. Diinkubasi pada inkubator suhu 37°C selama 24 jam.

Hari III :

5. Pengamatan hasil penanaman pada media uji Biokimia

Hasil :

Glukosa :

Laktosa :

Manitol :

Maltosa :

Sakarosa :

IMVIC

● Indol :

● Methyl Red :

● Veges Proskauer :

● Citrat :

● SIM

-Sulfit :

-Indol :

-Mortility :

● TSIA : /....., gas..... H₂S.....

● Urease :

Kesimpulan :

Dari bahan nomor :----- didapatkan bakteri :

Pembahasan :

Praktikan

Pembimbing,

() ()

7. *Pseudomonas* sp

A. PENDAHULUAN

1 Karakteristik

Genus *Pseudomonas* diperkenalkan pada tahun 1895 oleh Profesor Walter Migula terdapat 29 spesies *Pseudomonas* yang memiliki ciri khas, dengan 206 spesies. Bakteri *Pseudomonas* sendiri memiliki karakteristik seperti, gram negatif, berbentuk batang aerob obligat, motil mempunyai flagel polar. Bakteri ini, oksidase positif, katalase positif, nonfermenter dan tumbuh suhu dibawah 43⁰C. (Jain et al 2004). Spesies *Pseudomonas* seperti spesies *Pseudomonas* sp mampu menyerap logam krom (VI) dan kadmium (Cd), *aeruginosa* untuk logam tembaga (Cu), kadmium (Cd) dan timbal (Pb). *Pseudomonas putida*, logam kadmium (Cd), tembaga (Cu), timbal (Pb) dan seng (Zn). *Pseudomonas* sp, logam krom (VI) dan kadmium (Cd). *Pseudomonas stutzeri*, logam tembaga (Cu). Kondisi proses biosorpsi, pH mendekati netral (4-7) dan waktu kontak mulai 1 jam hingga 24 jam. (Jain et al., 2009). Bakteri *Pseudomonas* sendiri memiliki karakteristik seperti, gram negatif, berbentuk batang (rods) atau kokus (coccus), aerobobligat, motil mempunyai flagel polar. Bakteri ini, oksidase positif, katalase positif, nonfermenter dan tumbuh dengan baik pada suhu 4⁰C atau dibawah 43⁰C. *Pseudomonas* banyak ditemukan pada tanah, tanaman dan air. Beberapa spesies *Pseudomonas* seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas* sp, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas stutzeri* dan lain-lain. (Jain et al., 2009).

2 Culture

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri obligat aerob yang mudah tumbuh pada berbagai medium kultur, kadang-kadang menghasilkan aroma yang manis dan berbau seperti anggur atau seperti jagung taco. *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni yang bundar dan licin dengan warna kehijauan yang berfluoresensi. Bakteri ini sering menghasilkan pigmen kebiruan tak berfluoresensi dan piosianin yang berdifusi ke dalam agar. Spesies *Pseudomonas* lainnya tidak menghasilkan piosianin. Banyak galur *Pseudomonas aeruginosa* juga menghasilkan pigmen berfluoresensi, pioverdin yang memberikan warna kehijauan pada agar. Banyak strain *P aeruginosa* juga menghasilkan fluoresen pigmen pyoverdin, yang memberi warna kehijauan pada agar-agar. Beberapa strain menghasilkan pigmen merah tua pyorubin atau pigmen hitam piomelanin.

3 Patogenesis

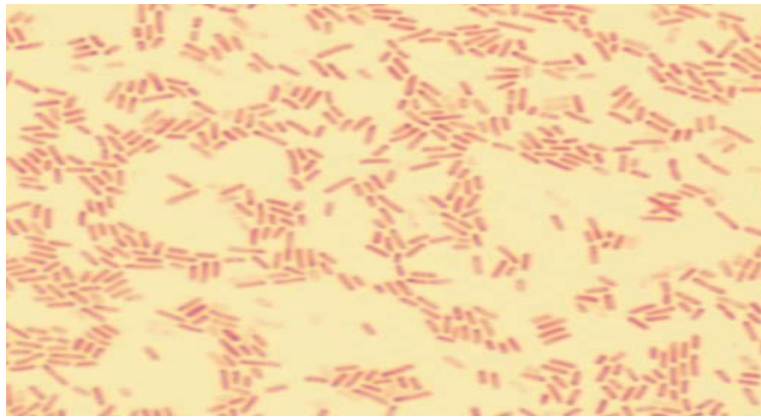
Pseudomonas aeruginosa menjadi patogenik hanya jika mencapai daerah yang tidak memiliki pertahanan normal, misalnya membran mukosa dan kulit yang terluka oleh cedera jaringan langsung, saat penggunaan kateter urin atau intravena, jika terdapat neutropenia, seperti pada kemoterapi kanker. Bakteri melekat dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit, menginvasi secara lokal, dan menyebabkan penyakit sistemik. Sebagai penyebab infeksi saluran kemih adalah bakteri gram negatif terutama kelompok *Pseudomonas* sp. dan kelompok Enterobacter hal ini disebabkan penggunaan kateter kandung kemih.

4 Karakteristik pertumbuhan

Pseudomonas aeruginosa tumbuh dengan baik pada suhu 37– 42 °C. Kemampuannya untuk tumbuh pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain dari grup fluoresens. Bakteri tersebut bersifat oksidase 10 positif. *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi karbohidrat, tetapi banyak galur yang mengoksidasi glukosa. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* biasanya di dasarkan pada morfologi koloni. Oksidase positif ditunjukkan dengan adanya pigmen khas dan pertumbuhan pada suhu 42°C.

B. KLASIFIKAS

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri berbentuk batang, berukuran sekitar 0,6 x 2 mikro meter. Bakteri ini bersifat gram negatif dan tampak dalam bentuk tunggal berpasangan, kadang-kadang rantai pendek dan dapat bergerak (motil) karena adanya satu flagel. Bakteri ini dapat hidup dan berkembang dalam keadaan tanpa oksigen. Isolat *Pseudomonas aeruginosa* dapat membentuk tiga macam koloni



Gambar: 8 Pewarnaan Gram *Pseudomonas aeruginosa*, yang berukuran sekitar $0,6 \times 2 \mu\text{m}$. Pembesaran asli $\times 1000$. Sumber (Jawetz at all 2013)

C. PEMERIKSAAN

Persiapan Alat dan Bahan

1) Bahan

1. Media mac conkey (MC)
2. Media reaksi biokimia
3. Suspensi kuman
4. Reagen indol (kovac)
5. Alpha naftol 5%
6. KOH 40%
7. Methyl red
8. Reagen Pewarnaan Gram (Carbol gentian violet, lugol, alkohol 96%, safranin)

2) Alat

1. Ose bulat
2. Ose Jarum
3. Pipet pasteur
4. Lampu spiritus
5. Tabung reaksi
6. Rak tabung
7. Penutup kasa
8. Korek api
9. Incubator
10. Minyak imersi
11. Glas objek
12. Mikroskop

Prosedur

Hari Pertama :

- 1 Siapkan alat dan bahan yang telah disteril dan bersih di atas meja praktikum.

- 2 Lakukan pembuatan preparat dari suspensi kuman (prosedur pembuatan preparat dan pewarnaan sesuai modul praktikum bakteriologi 1)
- 3 Lakukan pewarnaan kuman dengan pewarnaan Gram.
- 4 Lakukan pengamatan dengan perbesaran lensa obyektif 100x.
- 5 Lakukan penanaman sampel kuman pada MCA jika hasil pewarnaan ditemukan basil gram negatif dan pada BAP jika ditemukan gram positif.
- 6 Inkubasi media yang telah ditanam pada incubator pada suhu 37⁰ C selama 24 jam.

Hari Kedua:

- 1 Siapkan alat yang akan digunakan.
- 2 Ambil media MCA dari inkubator yang telah ditanami kuman selama 24 jam pada suhu 37⁰ C.
- 3 Karakterisasi morfologi koloni kuman pada media MC meliputi Bentuk koloni, Warna koloni, Tekstur koloni, Tepian koloni, Permukaan koloni, Sifat koloni, dan Indikator media (jika ada).
- 4 Lakukan penanaman pada media reaksi biokimia dengan mengambil 1 koloni pada media MC yang telah ditanami.

Cara penanaman media reaksi biokimia:

- a. Cair (media gula-gula (glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa dan mannos), air pepton, media VP, media MR, simon sitrat dan urea) dengan mengambil 1 mata ose bulat dari satu koloni kuman. Lalu ditanam berurutan dari 1 mata ose tadi tanpa mengambil kuman lagi.
- b. Media TSIA dan semi solid dengan cara mengambil 1 mata ose jarum dari koloni yang sama dengan pengambilan ose bulat. Lalu tanam berurutan TSIA ke semi solid.
- c. Inkubasikan media yang sudah ditanami dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37⁰C.

Hari Ketiga

Hasil penanaman koloni pada media reaksi biokimia diamati dan dicatat

Interpretasi hasil

- + tumbuh koloni bakteri pada media
- Tidak ada koloni bakteri

D. EVALUASI

1. Uji penentuan genus bakteri

Parameter		Hasil	
	I	II	III
Morfologi bentuk sel sifat gram motility			
Pertumbuhan Aerob/anaerob Ph optimal Suhu optimal(c ⁰)			
Biokimia Katalase Glukosa			

2. Uji penentuan spesies bakteri

Parameter			Hasil		
	I	II	III	IV	V
Morfologi Motility					
Pertumbuhan Suhu optimal (c ⁰)					
Biokimia oksidase indol sukrosa laktosa glukosa urease					
rRNA					

Affektif = lembar observasi affektif

Diskripsi	1	2	3	4
Berperilaku Profesional	Peserta tidak melakukan tindakan sama sekali	Peserta melakukan 1-2 langkah secara benar :	Peserta melakukan 3-4 langkah secara benar :	Peserta melakukan 5 langkah secara benar :

		1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik
--	--	--	--	--

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN PSEUDOMONAS

PRAKTIKUM: IDENTIFIKASI PSEUDOMONAS

NAMA :

TANGGAL :

NIM :

NO. BAHAN :

HARI I : / TGL

1. Pemeriksaan Mikroskopis

Bahan pemeriksaan dibuat preparat, kemudian diwarnai dengan pewarnaan \gram

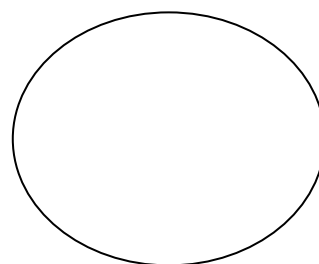
Hasil pemeriksaan

Bentuk :

Susunan:

Sifat :

Bakteri gram positif:



Bakteri gram negatif :

.

HARI II : / TGL :

Pengamatan Hasil reaksi biokimia

Media	Interpretasi hasil		Keterangan
	Positif (+)	Negatif (-)	
Gula-gula			
Methyl Red			
Voges Proskauer			
Simon Citrat			
TSI Agar			
SIM			
Uji Katalase			
Uji Oksidase			

2. Uji Biokimiawi

Koloni tersangka ditanam pada media : Glukosa, Maltosa dan Sakarosa, selanjutnya diinkubasi selama 1 malam (18 – 24 Jam)

3. Uji Oksidase

Koloni tersangka ditetesi :.....

Hasilnya adalah :.....

4. Uji Betalaktase (PPNG test)

Prosedur :

HARI I : / TGL

Pengamatan hasil penanaman pada media :

Kesimpulan :

No. BAHAN :

Ditemukan Bakteri :

Diskusi :

Mengetahui Dosen

Praktikan / Mahasiswa

(.....)

(.....)

8. **Vibrio**

A. PENDAHULUAN

1 Karakteristik

Vibrio adalah bakteri batang gram negatif banyak ditemukan pada permukaan air. Bakteri ini berbentuk batang bengkok, bersifat aerob dan ada yang bersifat anaerob fakultatif juga bersifat motil pergerakannya dikendalikan oleh flagela polar. (Jawetz et al.,2013). Vibriosis disebabkan oleh bakteri gram negatif *Vibrio*, yaitu *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, dan *V. Parahaemolyticus*. Penyakit tersebut dapat dideteksi dengan mengisolasi bakteri dari tubuh udang sakit dan menanamnya pada media agar selektif *Vibrio*, yaitu TCBS agar. Pada media ini koloni bakteri yang tumbuh tampak berwarna kuning dan hijau (Sabdon, 2001).

2 Klasifikasi Bakteri *Vibrio*

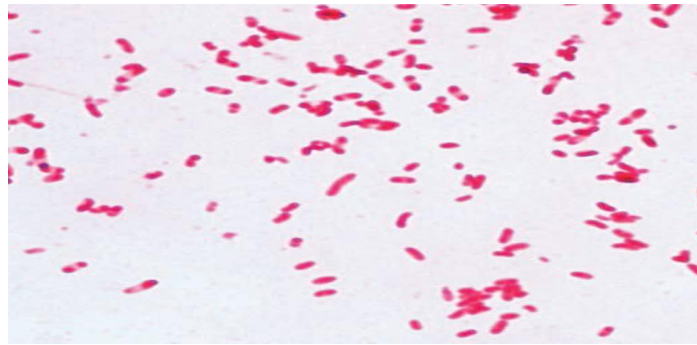
Berikut adalah klasifikasi saintifik bakteri *Vibrio* sp:

Kingdom : *Bacteria*
Phylum : *Proteobacteria*
Class : *Gammaproteobacteria*
Ordo : *Vibrionales*
Family : *Vibrionaceae*
Genus : *Vibrio*
Species : *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio damsela*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio metschnikovii*. (Jawetz, 2007).

B. Morfologi dan Struktur *Vibrio cholerae*

1.1. Ciri khas organisme

Pada isolasi pertama, *Vibrio cholerae* merupakan bakteri batang yang melengkung berbentuk koma dengan panjang 2 – 4 µm. Bakteri ini dapat bergerak secara aktif menggunakan flagel. Pada biakan lama, *Vibrio cholerae* dapat terlihat dalam bentuk batang lurus yang menyerupai bakteri enterik gram negatif. (Jawetz et al.,2013)



Gambar. 9 Pewarnaan Gram *Vibrio cholerae*. Yang berukuran 1×2 hingga $4 \mu\text{m}$. perbesaran $\times 1000$. Sumber: (Jawetz et al.,2013)

1.2. Kultur

Vibrio cholerae membentuk koloni bundar, cembung dan licin. *Vibrio cholerae* dan sebagian besar *Vibrio* sp lainnya dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37°C (Jawetz, 2012). *Vibrio cholerae* tumbuh dengan baik pada agar Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrosa (TCBS), tempat bakteri tersebut menghasilkan koloni kuning yang dapat dilihat langsung dengan latar belakang agar yang berwarna hijau gelap. *Vibrio* sp bersifat oksidase-positif, yang membedakannya dari bakteri enterik gram-negatif. Secara khas, *Vibrio* sp tumbuh pada pH yang sangat tinggi (8,5 - 9,5) dan dapat dibunuh dengan cepat oleh asam (Jawetz et al.,2013)

1.3. Sifat Pertumbuhan

Vibrio cholerae memfermentasi sukrosa dan mannitol. Hasil pemeriksaan oksidase yang positif merupakan langkah utama dalam identifikasi praduga *Vibrio cholerae* dan *Vibrio* lainnya. Sebagian besar spesies *Vibrio* sp bersifat halofilik obligat (tahan terhadap garam), dan NaCl seringkali merangsang pertumbuhannya. Beberapa *Vibrio* sp bersifat halofilik, memerlukan NaCl untuk dapat tumbuh (Jawetz, 2012).

1.4. Klasifikasi *Vibrio cholerae*

Organisme	Penyakit pada manusia
<i>V. cholerae</i> serogrup 01 dan 0139	Kolera epidemik dan pandemik
<i>V. cholerae</i> serogrup non-01/non-0139	Diare seperti kolera; diare ringan; infeksi intestinal (jarang)
<i>V. parahaemolyticus</i>	Gastroenteritis, mungkin infeksi ekstraintestinal
Lainnya <i>V. mimicus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. hollisae</i> , <i>V. fluvialis</i> , <i>V. damsela</i> , <i>V. anginolyticus</i> , <i>V. metschnikovii</i>	Infeksi pada telinga, luka, jaringan lunak dan infeksi ekstraintestinal lainnya, semuanya jarang terjadi

Sumber (Jawetz et al.,2013)

1.5. Patogenesis & Patologi

Dalam kondisi yang normal, *V. cholerae* bersifat patogenik hanya pada manusia. Seseorang yang mempunyai tingkat keasaman lambung normal harus menelan *V. cholerae* sebanyak 10 atau lebih agar dapat terinfeksi jika medium pembawanya adalah air, karena organisme tersebut rentan terhadap asam. Jika medium pembawanya makanan, diperlukan organisme sebanyak 10^2 - 10^1 agar terinfeksi, akibat kapasitas buffer makanan tersebut. Setiap obat atau keadaan yang menurunkan derajat keasaman lambung membuat seseorang menjadi lebih rentan terinfeksi *V. cholerae*.

Kolera bukan infeksi yang invasi. Organisme tersebut tidak memasuki aliran darah tetapi tetap di dalam usus. Organisme *V. cholerae* yang virulen menempel pada mikrovili brush border sel epitel. Di tempat ini, mereka berkembang biak dan mengeluarkan toksin kolera dan mungkin musinase serta endotoksin. (Jawetz, 2012)

C. PEMERIKSAAN

Persiapan Pemeriksaan

1. Persiapan Pasien Tidak ada persiapan khusus
2. Persiapan Sampel atau Spesimen

Sampel atau spesimen dapat berupa feses, hapus anus, bahan makanan dan air. Spesimen harus ada di laboratorium dalam waktu 2-3 jam setelah diambil. Spesimen harus dalam suhu ruang, bila ada penundaan dalam pemeriksaan, spesimen harus dimasukkan dalam media transport Alkaline Peptone Water untuk spesimen feses atau makanan, Cary and Blair untuk swab, dan dimasukkan dalam refrigerator. Transport lebih dari 8 jam dapat mempengaruhi hasil, jangan bekukan spesimen atau sampel.

3. Persiapan alat dan bahan

Alat :

- ❖ Neraca analitik
- ❖ Beaker gelas
- ❖ Sendok
- ❖ Erlenmeyer
- ❖ Gelas ukur
- ❖ kapas berlemak
- ❖ Aluminium foil

- ❖ Hot plate
- ❖ Cawan petri steri
- ❖ Ose steril
- ❖ Kapas lidi
- ❖ Inkubator

Bahan :

- ❖ Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS), terdiri dari

Bahan	Jumlah
Sucrose	20 g/1
Dipeptone	10 g/1
Sodium Citrate	10 g/1
Sodium Thiosulfate	10 g/1
Sodium Chloride	10 g/1
Ekstrak ragi	5 g/1
Oxbile (Oxgall)	5 g/1
Sodium Cholate	3 g/1
Ferric Citrate	1 g/1
Bromothymol Blue	0.04 g/1
Thymol Blue	0.04 g/1
Agar	15 g/1

Tabel 8. Bahan dan jumlah

- ❖ Aqudest

4. Prosedur

Uji Biokimia

Uji biokimia bakteri merupakan cara yang dilakukan untuk mengidentifikasi suatu biakan murni hasil isolasi. Teknik yang digunakan dalam identifikasi *V. cholerae* adalah uji lisin dekarboksilase dan ornitin dekarboksilase, oksidase, *Kliger Iron Agar* (KIA), Triple Sugar Iron agar (TSIA), voges-proskauer (VP), Methyl Red (MR), dan uji indol. *V. cholerae* akan menunjukkan hasil positif pada uji biokimia tersebut.

Uji Lysin Dekarboksilase

Uji lysin dekarboksilase digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri melakukan dekarboksilasi lysin melalui produksi enzim dekarboksilase. Proses dekarboksilase lysin sering digunakan bakteri untuk menetralkan lingkungan asam menjadi basa. Hasil positif untuk uji lysin dekarboksilase adalah terbentuknya warna ungu tua.

Uji Ornithin Dekarboksilase

Uji ornithin dekarboksilase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengurai ornitin (asam amino) menjadi amine. Hasil positif uji ornithin jika media berwarna ungu dan hasil negatif jika warna berubah menjadi kuning.

Uji Oksidase

Uji oksidase digunakan untuk menentukan apakah suatu organisme memiliki enzim sitokrom oksidase. oksidase-positif berarti bakteri mengandung sitokrom c oksidase. Uji positif (OX+) akan menghasilkan perubahan warna ungu menjadi ungu tua.

Uji Kliger Iron Agar

Uji KIA bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan glukosa dan laktosa serta kemampuan memproduksi hydrogen sulfida. Hasil positif pada uji KIA, tidak terbentuk gas, dengan slant (bagian permukaan media) berwarna merah (bersifat basa) dan butt (bagian dasar media) berwarna kuning (bersifat asam).

Uji Triple Sugar Iron Agar

Uji TSIA digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasikan gula. Medium TSIA mengandung 3 macam gula, yaitu glukosa, laktosa, dan sukrosa. Bila mikroorganisme hanya dapat memfermentasikan glukosa, maka bagian butt media berwarna kuning (bersifat asam) dan bagian slant-nya berwarna merah (bersifat basa). Bila mikroorganisme dapat memfermentasikan laktosa atau sukrosa atau keduanya, maka bagian slant dan butt media berwarna kuning (bersifat asam).

Uji Voges-Proskauer

Uji Voges-Proskauer bertujuan untuk mengetahui apakah suatu bakteri mampu menghasilkan acetone atau tidak. Warna merah muda sampai merah tua menunjukkan hasil positif, jika tidak terjadi perubahan warna maka menunjukkan hasil negatif.

Uji Methyl Red

Uji Methyl Red dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam berkonsentrasi tinggi sebagai hasil akhirnya. asam yang terbentuk berubah menjadi merah dengan ditambahkannya reagen metil merah. warna merah menunjukkan reaksi positif sedangkan warna kuning menunjukkan reaksi negative.

Uji Indol

Uji indol dikatakan positif jika terbentuk warna merah keunguan pada permukaan medium yang menunjukkan bakteri memiliki enzim triptonase yang dapat menghidrolisis asam amino triptofan yang memiliki gugus samping indol sehingga indol akan bereaksi dengan reagen uji dan membentuk indol yang berwarna merah.

Prosedur Kerja

1. Prinsip tes

Medium ini terdiri dari protein tumbuhan dan hewan, campuran Oxygall, Sodium chloride, Sodium thiosulfate, Ferric citrate, Sucrose dan ekstrak ragi. Garam empedu menghambat pertumbuhan mikroorganisme gram positif, 1% Sodium chloride untuk pertumbuhan optimal dan aktivitas metabolik Vibrio, Sodium thiosulfate sebagai sumber sulfur dan kombinasi dengan ferric citrate untuk mendeteksi produksi hidrogen sulfide, Sucrose berfungsi untuk fermentasi karbohidrat bersama dengan Bromothymol blue dan Thymol blue, untuk membedakan jenis Vibrio.

2. Pembuatan media :

- ❖ Disiapkan alat dan bahan yang digunakan
- ❖ Ditimbang 22 gram bubuk TCBS dengan menggunakan neraca analitik
- ❖ Dilarutkan dengan 250 ml aquades
- ❖ Dituangkan kedalam erlenmeyer
- ❖ Dikocok sampai larut
- ❖ Dicek pHnya dengan menggunakan Ph stick
- ❖ Dipanaskan
- ❖ Dituang kedalam petridish steril
- ❖ Dibungkus dan disimpan di dalam lemari es

3. Inokulasi sampel :

- ❖ Beri label identitas pasien dan tanggal penanaman pada media TCBS.

- ❖ Nyalakan api bunsen
- ❖ Ambil kapas lidi yang berisi spesimen lalu dioleskan satu titik pada media TCBS Agar.
- ❖ Ratakan olesan dengan digores menggunakan ose steril pada media TCBS Agar dengan teknik 4 kuadran
- ❖ Inkubasi media pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam
- ❖ Amati perubahan warna koloni pada media TCBS Agar.

Tahap Akhir

1. Interpretasi

NO	Jenis Vibrio	Warna Koloni
1	<i>Vibrio cholerae</i>	Kuning
2	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Biru – hijau
3	<i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Vibrio fluvialis</i> , <i>Vibrio furnissi</i>	Kuning
4	<i>Vibrio damsela</i> , <i>Vibrio mimicus</i>	Hijau
5	<i>Vibrio vulnificus</i>	Hijau (85%) atau kuning (15%)
6	<i>Vibrio hollisae</i>	Hijau (pertumbuhan sedikit)
7	<i>Vibrio metschnikovii</i>	Kuning

Tabel. 9 Interpretasi vibrio berdasarkan warna spesies

2. Membuat kesimpulan
3. Membuat laporan hasil identifikasi
4. Membersihkan alat dan bahan yang telah selesai digunakan

D. EVALUASI

Tes

1. Jelaskan perbedaan *Vibrio cholerae* dari
 - a. Warna
 - b. Pertumbuhan koloni pada media
 - c. Bentuk
 - d. Tekstur

2. Psikomotor = lembar observasi psikomotor

Diskripsi	1	2	3	4
Hasil Pengecatan	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Warna koloni kuning/hijau 2. Pertumbuhan koloni pada media 3. Bentuk bulat dan tidak beraturan / beraturan 4. Tekstur halus Susunan	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Warna koloni kuning/hijau 2. Pertumbuhan koloni pada media 3. Bentuk bulat dan tidak beraturan /beraturan 4. Tekstur halus Susunan	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Warna koloni kuning/hijau 2. Pertumbuhan koloni pada media 3. Bentuk bulat dan tidak beraturan/berat uran 4. Tekstur halus Susunan	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Warna koloni kuning/hijau 2. Pertumbuhan koloni pada media 3. Bentuk bulat dan tidak beraturan/berat uran 4. Tekstur halus Susunan
Hasil Identifikasi	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil warna benar 2. Pembacaan pertumbuhan koloni benar 3. Pembacaan bentuk benar 4. Pembacaan tekstur benar 5. Menyimpulkan benar sampai tekstur	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil pigmen benar 2. Pembacaan MSA benar 3. Pembacaan hasil koagulase benar 4. Menyimpulkan benar sampai tekstur	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil pigmen benar 2. Pembacaan MSA benar 3. Pembacaan hasil koagulase benar 4. Menyimpulkan benar sampai tekstur	Memenuhi 5 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan hasil pigmen benar 2. Pembacaan MSA benar 3. Pembacaan hasil koagulase benar 4. Menyimpulkan benar sampai tekstur

3. Afektif = lembar observasi afektif

Diskripsi	1	2	3	4
Berperilaku Profesional	Peserta tidak melakukan tindakan sama sekali	Peserta melakukan 1-2 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	Peserta melakukan 3-4 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	Peserta melakukan 5 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik

JURNAL PRAKTIKUM VIBRIO

PRAKTIKUM: IDENTIFIKASI VIBRIO

NAMA :

TANGGAL :

NIM :

NO. BAHAN :

HARI I : / TGL

1. Pemeriksaan Mikroskopis

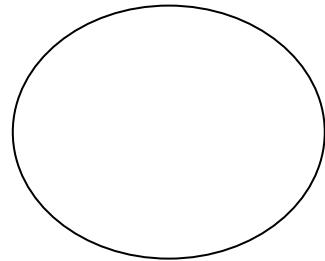
Bahan pemeriksaan dibuat preparat, kemudian diwarnai dengan pewarnaan \gram

Hasil pemeriksaan

Bentuk :

Susunan:

Sifat :



2. Hasil Uji reaksi Biokimia

Media	Interpretasi hasil		Keterangan
	Positif (+)	Negatif (-)	
Gula-gula			
Methyl Red			
Voges Proskauer			
Simon Citrat			
TSI Agar			
SIM			
Uji Katalase			
Uji Oksidase			

3. Pengamatan Hasil Isolasi

Jenis Vibrio	Warna koloni			Keterangan
	Kuning	Kuning	Hijau	
<i>Vibrio cholerae</i>				
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>				
<i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Vibrio fluvialis</i> , <i>Vibrio furnissi</i>				
<i>Vibrio damsela</i> , <i>Vibrio mimicus</i>				
<i>Vibrio vulnificus</i>				
<i>Vibrio hollisae</i>				
<i>Vibrio metschnikovii</i>				

Kesimpulan :

No. BAHAN :

Ditemukan Bakteri :

Diskusi :

Mengetahui Dosen

Praktikan / Mahasiswa

(.....)

(.....)

9. *Genus Haemophilus*

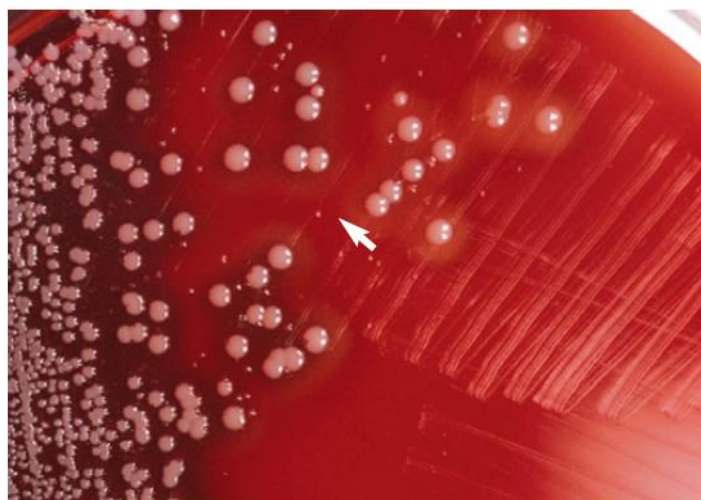
A. Pendahuluan

Genus *Haemophilus* terdiri dari Gram negatif, pleomorfik coccobacilli atau batang yang secara mikroskopis dapat bervariasi dari coccobacilli kecil pada hasil pewarnaan langsung sampel klinis hingga filamen panjang, kadang-kadang terlihat pada pewarnaan dari pertumbuhan koloni. *Haemophilus* bersifat nonmotil dan anaerobik fakultatif, memfermentasi karbohidrat. Secara umum menunjukkan hasil oksidase dan katalase positif, mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan merupakan parasit obligat pada selaput lendir manusia dan hewan.

Terdapat sekitar 13 spesies *Haemophilus*. Delapan spesies yang berasosiasi dengan manusia adalah *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *H. haemolyticus*, *H. parahaemolyticus*, *H. paraphrohaemolyticus*, *H. pittmaniae*, *H. aegyptius*, dan *H. ducreyi*. Sebagian besar anggota genus *Haemophilus* bersifat nonpatogenik atau menghasilkan infeksi oportunistik. Penekanan pada bagian ini adalah spesies patogen utama *H. influenzae*, *H. aegyptius*, dan *H. ducreyi*. *Haemophilus* berasal dari kata Yunani artinya “pencinta darah”. Sesuai dengan namanya, organisme *Haemophilus* memerlukan faktor pertumbuhan yang sudah ada dalam darah. Faktor ini adalah faktor X dan faktor V. Faktor X (hemin atau hematin) berarti “X” untuk tidak diketahui; Faktor V (nikotinamida adenin dinukleotida [NAD]), berarti “V” untuk vitamin; atau keduanya. *Haemophilus* spp. dengan awalan para hanya memerlukan faktor V untuk pertumbuhan.

Produksi hemolisis pada media agar darah (5%, darah kuda dan kelinci) merupakan karakteristik diferensial yang penting. Meski spesies tertentu juga hemolitik pada media agar darah domba, organisme tidak tumbuh secara murni pada media ini (tumbuh beserta bakteri lain). Faktor X dan V ditemukan dalam warna merah sel darah (sel darah merah) namun, hanya faktor X yang tersedia secara langsung. *Haemophilus* spp. yang bergantung pada faktor V tidak bertambah SBA karena sel darah merahnya masih utuh. Selain itu sel darah merah domba mengandung enzim (NADase) yang menghidrolisis faktor V. Pemeriksaan laboratorium klinis menggunakan agar coklat (CHOC agar) untuk isolasi *Haemophilus* spp. dari spesimen klinis. Perusakan sel darah merah karena panas dalam pembuatan agar CHOC melepaskan faktor X dan faktor V serta menonaktifkan NADase. Faktor nutrisi tambahan sudah ditambahkan. Sebuah fenomena yang membantu dalam pengenalan *Haemophilus* spp. yang memerlukan faktor V adalah satelitisme. Satelitisme

terjadi ketika suatu organisme, seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, atau *Neisseria spp.*, menghasilkan faktor V sebagai produk sampingannya metabolisme. Isolat *Haemophilus* memperoleh faktor X dan V dari salah satu organisme ini ketika tumbuh di agar darah. Koloni kecil *Haemophilus* terlihat tumbuh di sekitar organisme penghasil faktor V. Gambar 10.1 menunjukkan *H. Influenzae* satellitisme di sekitar koloni *S. aureus*. Kecuali *H. ducreyi*, semua *Haemophilus spp.* yang signifikan secara klinis. memerlukan faktor V untuk pertumbuhan dan menampilkan pola pertumbuhan yang tidak biasa ini (Mahon and Lehman 2019)



Gambar 10 Pertumbuhan *H. influenzae* (tanda panah putih)

Tujuan

Mampu melakukan identifikasi *H. influenzae* dengan menggunakan media mikrobiologis, pewarnaan dan pengamatan mikroskopis

Kompetensi

1. Mahasiswa mampu melakukan inokulasi pada media
2. Mahasiswa mampu meninterpretasikan hasil pewarnaan Gram
3. Mahasiswa mampu menginterpretasikan biakan bakteri yang tumbuh pada media mikrobiologis

B. Praktikum

▪ Pra Analitik

1. Persiapan Pasien

Tidak ada persiapan khusus untuk pasien

2. Sampel

Haemophilus spp. telah dikaitkan dengan banyak penyakit di manusia. Hampir semua spesimen yang diserahkan untuk pemeriksaan bakteriologis rutin mungkin mengandung organisme ini. Sumber umum meliputi darah, *Cerebrospinal fluid*, eksudat telinga tengah, cairan sendi, atas dan bawah spesimen saluran pernafasan, usapan dari konjungtiva, swab vagina swab, dan nanah.

3. Alat dan Bahan

Alat

- | | |
|-------------------|-----------------------------|
| - Neraca analitik | - <i>Aluminium foil</i> |
| - Beker gelas | - <i>Hot plate</i> |
| - Sendok | - <i>Cawan petri steril</i> |
| - Erlenmeyer | - <i>Ose steril</i> |
| - Gelas ukur | - <i>Kapas lidi</i> |
| - Kapas | - <i>Inkubator</i> |

Bahan

Bahan yang digunakan berupa agar cokelat (CHOC Agar). Berikut komposisi dari CHOC Agar terlihat pada Gambar berikut ini :.

Hemoglobin.....	10.0 g	Cornstarch.....	1.0 g
Casein Peptone	7.5 g	Monopotassium Phosphate	1.0 g
Meat Peptone.....	7.5 g	●GCHI Enrichment.....	10.0 ml
Sodium Chloride	5.0 g	Agar.....	10.0 g
Dipotassium Phosphate.....	4.0 g	Demineralized Water	1000.0 ml
pH 7.2 +/- 0.2 @ 25°C			
●GCHI Enrichment:			
Glucose	100.0 g	Coccarboxylase	0.1 g
Cysteine Hydrochloride.....	25.9 g	Guanine Hydrochloride	0.03 g
L-Glutamine	10.0 g	Ferric Nitrate.....	0.02 g
L-Cystine	1.1 g	p-Aminobenzoic Acid.....	0.013 g
Adenine.....	1.0 g	Vitamin B12	0.01 g
NAD	0.25 g	Thiamine Hydrochloride.....	0.003 g
		Demineralized Water	1000.0 ml

Gambar 12 Komposisi CHOC agar¹

▪ Analitik

Cara Kerja (Prinsip Tes, Pembuatan Media dan Inokulasi)

1. Prinsip Tes

CHOC agar adalah media non-selektif yang diperkaya, dilengkapi dengan kofaktor V (nicotinamide adenine dinucleotide; NAD) dan kofaktor X (hemin), dan memfasilitasi pertumbuhan bakteri anaerob yang membutuhkan persyaratan

pertumbuhan khusus. Media CHOC agar direkomendasikan untuk pengujian aerotoleransi anaerob obligat. Darah kuda yang dipanaskan dan ditambahkan ke media memberikan kesan “cokelat”. Media ini disiapkan, disalurkan, dan dikemas dalam kondisi bebas oksigen untuk mencegah pembentukan produk teroksidasi sebelum digunakan.

2. Pembuatan CHOC Agar

- Tambahkan media kecuali larutan hemoglobin ke dalam air destilata dan volumenya menjadi 500 ml. Aduk rata media.
- Panaskan perlahan hingga mendidih. Autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 ATM pada suhu 121°C. Dinginkan pada suhu 45°C -50°C.
- Tambahkan 500ml larutan hemoglobin steril dan aduk rata. Tuang ke dalam cawan Petri steril. Segel cawan petri dengan parafilm, balik media dan simpan di dalam kulkas.

3. Inokulasi

- Beri label identitas pasien dan tanggal penanaman pada media CHOC.
- Nyalakan api Bunsen
- Ambil kapas lidi yang berisi spesimen lalu dioleskan satu titik pada media CHOC.
- Ratakan olesan dengan digores menggunakan ose steril pada media TCBS Agar dengan teknik 4 kuadran
- Inkubasi media pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam Amati pertumbuhan koloni pada media CHOC.
- Lakukan pewarnaan Gram pada koloni yang tumbuh

▪ Pasca Analitik

1. Interpretasi hasil

Pertumbuhan *Haemophilus sp.* akan berupa koloni tidak berwarna atau berwarna putih Mutiara. Koloni berbentuk kecil. Bakteri lain yang mungkin tumbuh adalah *Neisseria sp.* dan *Streptococcus sp.* Rujukan dapat dilihat pada kit insert media yang digunakan.

2. Buatlah kesimpulan
3. Bersihkan alat dan bahan yang telah selesai digunakan

C. Evaluasi

1. Deskripsikan penampakan *H. influenzae* pada media CHOC!
2. Tes porfirin untuk *H. influenzae* adalah _____ karena organisme _____ melakukan biosintesis heme. Fluoresensi hasil tesnya adalah _____.
 - A. Negatif; tidak bisa; negatif
 - B. Positif; tidak bisa; positif
 - C. Negatif; Bisa; positif
 - D. Positif; Bisa; negatif
3. Infeksi yang disebabkan oleh *H. influenzae* β -laktamase-positif dapat disembuhkan dengan yang kelompok antibiotik?
 - A. Ampisilin
 - B. Penisilin
 - C. Salah satu dari hal di atas
 - D. Bukan dari salah satu di atas

D. Penutup

Ringkasan

Genus *Haemophilus* terdiri dari Gram negatif, pleomorfik coccobacilli atau batang yang secara mikroskopis dapat bervariasi dari coccobacilli kecil pada hasil pewarnaan langsung sampel klinis hingga filamen panjang, kadang-kadang terlihat pada pewarnaan dari pertumbuhan koloni. *Haemophilus* bersifat nonmotil dan anaerobik fakultatif, memfermentasi karbohidrat. Pemeriksaan laboratorium klinis menggunakan agar coklat (CHOC agar) untuk isolasi *Haemophilus spp.* dari spesimen klinis. (Mahon and Lehman 2019).

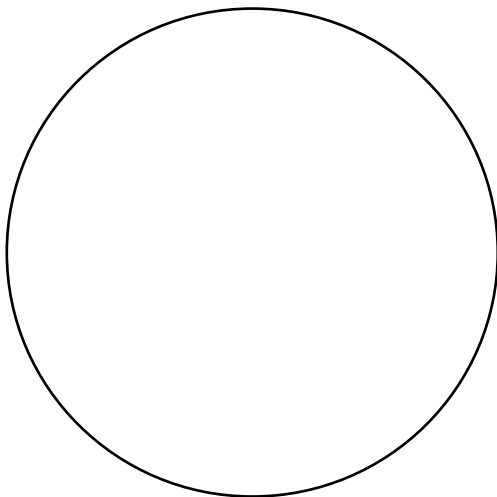
JURNAL PRAKTIKUM
PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS *Haemophilus influenza*

Nama Mahasiswa: _____ Tanggal Praktikum : _____

5. Hasil Pengamatan makroskopis (Pengamatan koloni yang tumbuh pada media)

Nama media : _____
 Bentuk koloni : _____
 Ukuran koloni : _____
 Warna koloni : _____
 Tepian koloni : _____
 Perubahan media: _____

6. Hasil pengamatan mikroskopis setelah pewarnaan (Gambarlah hasil pengamatan dari mikroskop)

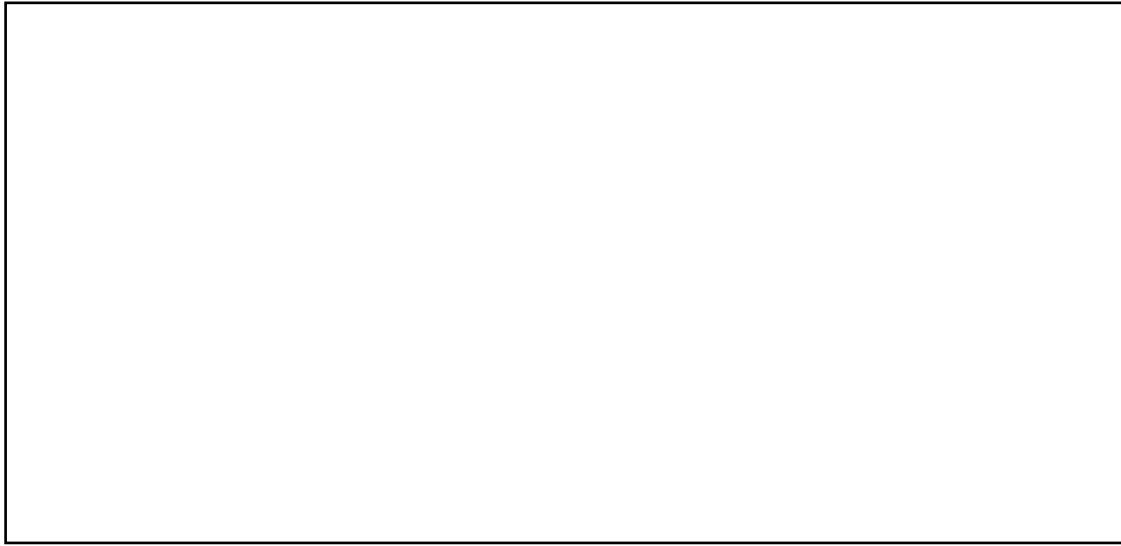


Bentuk : _____
 Susunan : _____
 Warna Sel : _____
 Jenis Pewarnaan: _____
 Hasil Pewarnaan: _____
 Latar Belakang : _____
 Perbesaran : _____

7. Hasil uji biokimia (Isi dengan positif: + ; negatif: -; ada : v; tidak ada: x)

Bakteri	TSIA				Indol	MR	VP	Citrat	Urea	Katalase	Koagulse	Oksidase
	Atas	Bawah	Gas	H ₂ S								

8. *Kesimpulan*



Dosen Pengampu,

Praktikan,

(.....)

(.....)

10. *Genus Corynebacterium*

A. Pendahuluan

Deskripsi

Genus *Corynebacterium* merupakan kelompok bakteri patogen hewan dan manusia. Selain itu *Corynebacterium* dapat hidup sebagai saprofit dan patogen tanaman. Sebanyak lebih dari 100 spesies dalam genus ini, dan sekitar 50 spesies penting dalam klinis. Sebagian besar spesies ditemukan sebagai biota normal pada kulit dan selaput lendir manusia dan hewan. Beberapa spesies ditemukan di lingkungan. Berdasarkan pengurutan asam ribonukleat (rRNA) *ribosomal 16S*, *corynebacteria* berkerabat dekat dengan mikobakteri dan nocardiae. *Corynebacteria* dapat dibagi menjadi spesies nonlipofilik dan lipofilik (Mahon and Lehman 2019).

Corynebacteria lipofilik umumnya sulit untuk tumbuh dan tumbuh lambat pada media kultur standar; kultur sering kali harus diinkubasi setidaknya selama 48 jam sebelum pertumbuhan terdeteksi. Namun, pertumbuhan akan meningkat jika lipid disertakan dalam media kultur. Pada pewarnaan Gram, *corynebacteria* adalah batang Gram positif yang sedikit melengkung dengan sisi yang tidak sejajar dan ujung yang sedikit lebih lebar, menghasilkan "bentuk tongkat" atau *coryneform* yang telah dijelaskan. Istilah diphtheroid, yang berarti "seperti difteri," terkadang digunakan untuk merujuk pada morfologi pewarnaan Gram.

Patogen yang paling signifikan dari kelompok tersebut, *C. diphtheriae*, telah dipelajari secara ekstensif dan dijelaskan dengan baik. Penyakit yang disebabkan oleh *C. diphtheriae* disebut sebagai difteri. Non difteri *Corynebacterium spp.* sering diisolasi dari spesimen klinis, dan sering dianggap sebagai komensal. Namun, sama seperti banyak organisme yang sebelumnya dianggap sebagai komensal, *Corynebacterium spp.* yang diisolasi dari berbagai bagian tubuh dapat menjadi patogen oportunistik, terutama pada pasien dengan gangguan kekebalan. *Corynebacterium spp.* nondifteri yang menyebabkan penyakit pada manusia termasuk, tetapi tidak terbatas pada, *Corynebacterium amycolatum*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium ulcerans*, dan *Corynebacterium urealyticum*.

C. diphtheriae dapat tumbuh pada agar nutrisi, pertumbuhan lebih baik diperoleh pada media yang mengandung darah atau serum, seperti serum Loeffler atau agar Pai. *C.*

diphtheriae dapat memiliki zona β -hemolisis yang sangat kecil (Gambar 11.1). Agar darah sistin-tellurit (*Cystine Tellurite Blood Agar*), modifikasi dari medium Tinsdale, mengandung sel darah merah domba, serum sapi, sistin, dan kalium tellurit. CTBA bersifat selektif dan diferensial. Kalium tellurit menghambat banyak bakteri noncoryneform. Ketika tumbuh pada CTBA, corynebacteria membentuk koloni hitam atau kecokelatan dari reduksi tellurit (Mahon and Lehman 2019).



Gambar 13 Pertumbuhan *C. diphtheriae* pada agar darah (Mahon & Lehman 2019)

Tujuan

1. Mampu melakukan identifikasi *C. diphtheriae* dengan menggunakan media mikrobiologis, pewarnaan dan pengamatan mikroskopis

Kompetensi

1. Mahasiswa mampu melakukan inokulasi pada media
2. Mahasiswa mampu meninterpretasikan hasil pewarnaan Gram
3. Mahasiswa mampu menginterpretasikan biakan bakteri yang tumbuh pada media mikrobiologis

B. Praktikum

▪ Pra Analitik

1. Persiapan Pasien

Tidak ada persiapan khusus untuk pasien

2. Sampel

Sampel dapat diambil melalui usap tenggorok, usap hidung dan usap luka. Adapaun contoh pengambilan sampel dengan usap tenggorok adalah sebagai berikut:

Spesimen usap tenggorok

- Prosedur pengambilan:

- 1) Siapkan media Amies & swab steril, tuliskan identitas penderita yang akan diambil spesimen (nama, umur, jenis kelamin, tanggal dan jam pengambilan).
- 2) Posisi petugas pengambil berada disamping kanan penderita.
- 3) Penderita dipersilahkan duduk dengan sandaran dan tengadahkan kepala penderita.
 - Jika penderita di tempat tidur maka penderita diminta terlentang
 - Penderita diminta membuka mulut dan mengatakan “AAA”
 - Buka swab dari pembungkusnya, dengan spatula tekan pangkal lidah, kemudian usapkan swab pada daerah faring dan tonsil kanan kiri. Apabila terdapat membran putih keabuan usap disekitar daerah tersebut dengan menekan agak kuat (bisa sampai berdarah).
- 4) Buka tutup media Amies masukkan segera swab (swab harus terendam media) tutup rapat.
- 5) Masukkan media Amies dalam spesimen carrier dan kirim segera ke Laboratorium Pemeriksa disertai form list kasus difteri individu dan form Laboratorium (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Surveilans dan Karantina Kesehatan, and Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit 2017).

3. Alat dan Bahan

Alat

- Neraca analitik
- Beker gelas
- Sendok
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Kapas
- *Aluminium foil*
- Kaca objek
- Mikroskop
- Pewarna Gram
- *Hot plate*
- Cawan petri steril
- Ose steril

- Kapas lidi
- Inkubator

Bahan

Bahan yang digunakan berupa Cystine Tellurite Blood Agar (CTBA). Berikut komposisi dari CTBA Agar terlihat pada Gambar 11.2.

Casein Peptone.....	13.0 g
Sodium Chloride.....	5.0 g
Yeast Extract.....	5.0 g
Beef Heart Infusion	2.0 g
L-Cystine	44.0 mg
Potassium Tellurite 1 %.....	50.0 ml
Sheep Blood	5 %
Agar	15.0 g
Demineralized Water	1000.0 ml

▪ Analitik

Cara Kerja (Prinsip Tes, Pembuatan Media dan Inokulasi)

1. Prinsip Tes

CTBA direkomendasikan untuk isolasi selektif dan diferensiasi jenis *Corynebacterium diphtheriae*. CTBA dibuat dengan membuat Basis Agar Sistin Tellurit dan menambahkan darah domba steril. CTBA digunakan untuk isolasi selektif dan diferensiasi jenis *Corynebacterium diphtheriae*. Media ini bersifat diferensial berdasarkan kemampuan spesies *Corynebacterium* untuk mereduksi tellurit sedangkan difteri yang ditemukan di saluran pernapasan atas tidak mampu mereduksi tellurit. L-Sistin merupakan sumber asam amino, yang meningkatkan produksi H₂S. Uji biokimia lebih lanjut diperlukan untuk membedakan antara *C. diphtheriae* dan *C. ulcerans* karena reaksi yang serupa pada media ini (Himedia 2024).

2. Pembuatan CTBA

- Larutkan 40,05 gram dalam 900 ml air destilata. Panaskan hingga mendidih untuk melarutkan media sepenuhnya (Jumlah gram media sesuaikan dengan takaran yang tertera pada botol media).
- Sterilkan dengan autoklaf pada tekanan 1 atm (121°C) selama 15 menit.
- Dinginkan hingga 45-50°C

- Tambahkan secara aseptik 5% v/v darah domba steril yang telah didefibrilasi dan PTe 1% Selective Supplement (1 ml per vial) (FD052).
- Aduk rata dan tuang ke dalam cawan Petri steril. Segel cawan petri dengan parafilm, balik media dan simpan di dalam kulkas.

3. Inokulasi

- Beri label identitas pasien dan tanggal penanaman pada media CTBA.
- Nyalakan api Bunsen
- Ambil kapas lidi yang berisi spesimen lalu dioleskan satu titik pada media CTBA.
- Ratakan olesan dengan digores menggunakan ose steril pada media CTBA Agar dengan teknik 4 kuadran
- Inkubasi media pada suhu 35-37°C selama 18-72 jam Amati pertumbuhan koloni pada media CTBA (Himedia 2024; Remel 2008).
- Lakukan pewarnaan Gram pada koloni yang tumbuh

▪ Pasca Analitik

1. Interpretasi hasil

Koloni *C. diphteriae* yang tumbuh akan berwarna hitam berkilau. Koloni berbentuk kecil. Bakteri lain yang mungkin tumbuh adalah *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, koloni akan tampak tidak berwarna dan tumbuh terhambat. Rujukan dapat dilihat pada kit insert media yang digunakan.

2. Buatlah kesimpulan

3. Bersihkan alat dan bahan yang telah selesai digunakan

4. Tuliskan laporan hasil identifikasi

C. Evaluasi

1. Deskripsikan pertumbuhan *C. diphteriae* pada media CTBA!

2. Deskripsikan hasil pewarnaan Gram *C. diphteriae*!

D. Penutup

Ringkasan

C. diphteriae merupakan spesies utama penyebab penyakit difteri terutama pada populasi di negara-negara yang tidak menyediakan vaksin difteri. *C. diphteriae* membutuhkan media khusus agar dapat tumbuh dengan baik, yaitu media yang mengandung serum atau darah. Hasil pewarnaan Gram *C. diphteriae* akan menunjukkan bakteri berbentuk “L” atau “Y” dan ini menjadi ciri khas *C. diphteriae*

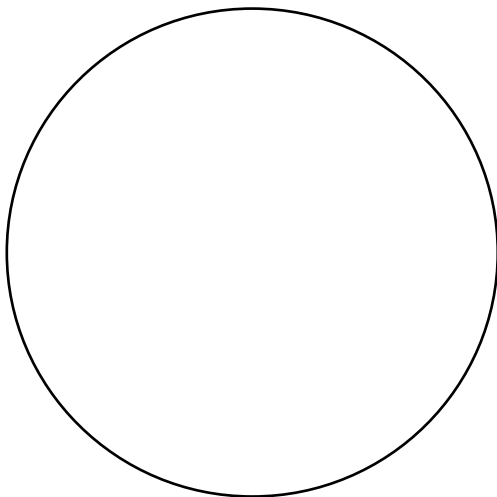
JURNAL PRAKTIKUM
PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS *Corynebacterium diphtheriae*

Nama Mahasiswa: _____ Tanggal Praktikum : _____

9. Hasil Pengamatan makroskopis (Pengamatan koloni yang tumbuh pada media)

Nama media : _____
 Bentuk koloni : _____
 Ukuran koloni : _____
 Warna koloni : _____
 Tepian koloni : _____
 Perubahan media: _____

10. Hasil pengamatan mikroskopis setelah pewarnaan (Gambarlah hasil pengamatan dari mikroskop)



Bentuk : _____
 Susunan : _____
 Warna Sel : _____
 Jenis Pewarnaan: _____
 Hasil Pewarnaan: _____
 Latar Belakang : _____
 Perbesaran : _____

11. Hasil uji biokimia (Isi dengan positif: + ; negatif: -; ada : v; tidak ada: x)

Bakteri	TSIA				Indol	MR	VP	Citrat	Urea	Katalase	Koagulse	Oksidase
	Atas	Bawah	Gas	H ₂ S								

12. Kesimpulan

--

Dosen Pengampu,

Praktikan,

(.....)

(.....)

11. *Neisseria* sp

A. PENDAHULUAN

Nama genus *Neisseria* diambil dari nama ahli bakteriologi Jerman Albert Neisser, yang pada tahun 1879 menemukan contoh pertamanya, *Neisseria gonorrhoeae*, patogen yang menyebabkan penyakit gonore pada manusia. *Neisseria* adalah bakteri Gram-negatif aerob, berbentuk diplokokus (berdiameter sekitar 0,8 μm) dan berpasangan (diplococcus) dengan sisi yang berdekatan (menyerupai biji kopi) jika dilihat secara mikroskopis.(Jawetz, dkk 2013). Perbedaan antara *N. gonorrhoeae* dan *N. meningitidis* biasanya didasarkan atas hasil fermentasi gula-gula. *N. meningitidis* membentuk asam dari glukosa dan maltosa, Sedangkan *N. gonorrhoeae* hanya membentuk asam dari glukosa saja. Hasil tes gula- gula ini dapat dikacaukan oleh sifat pertumbuhan kuman-kuman itu sendiri. Misalnya pembentukan asam dari karbohidrat dapat dikacaukan oleh produk yang bersifat alkali dari degradasi pepton secara enzimatis, oleh karena itu perlu dilakukan cara identifikasi tambahan.

B. Klasifikasi *Neisseria*

Setidaknya 10 spesies *Neisseria* telah diurutkan secara lengkap. Spesies yang paling banyak dipelajari adalah *N. meningitidis* dengan lebih dari 70 strain dan *N. gonorrhoeae* dengan setidaknya 10 strain yang diurutkan secara lengkap. *Neisseria* terdiri dari 17 spesies yang dapat diisolasi dari manusia dan enam spesies yang mengkolonisasi berbagai hewan dan sering mengkolonisasi nasofaring anak-anak dan orang dewasa.

Humans		Animal Hosts Only
Urogenital Tract	Oropharynx	Host/Species
<i>N. gonorrhoeae</i>	<i>N. meningitidis</i> <i>N. lactamica</i> <i>N. gonorrhoeae</i> <i>N. animaloris</i> <i>N. bacilliformis</i> <i>N. cinerea</i>	<i>Dogs/N. weaveri</i> , <i>N. flavescens</i> , <i>N. animaloris</i> , <i>N. mucosa</i> , <i>N. flavescens</i> , <i>N. sicca</i> , <i>N. canis</i> , <i>N. shayegani</i> , <i>N. zoodegmatis</i>

<i>N. elongata</i>	Guinea pigs/ <i>N. animalis</i> , <i>N. denitrificans</i>
<i>subsp. elongata</i>	
<i>subsp. glycolytica</i>	Cow/ <i>N. dentiae</i>
<i>subsp. nitroreducens</i>	Cat, leopard, lion, tiger/ <i>N. animaloris</i>
<i>N. flavescens</i>	
<i>N. mucosa</i>	Iguanas/ <i>N. igaunae</i>
<i>var. mucosa</i>	Dolphins/ <i>N. mucosa</i>
<i>var. heidelbergensis</i>	<i>var. heidelbergensis</i>
<i>N. polysaccharea</i>	Monkeys/ <i>N. macacae</i>
<i>N. sicca</i>	Vulture/ <i>N. sicca</i>
<i>N. subflava</i>	Duck/ <i>N. mucosa</i>
<i>bv. flava</i>	Mosquito, fly, tick
<i>bv. perflava</i>	<i>Neisseria spp.</i>
<i>bv. subflava</i>	Honey bee/ <i>N. meningitidis</i>
<i>N. zoodegmatis</i>	Louse/ <i>N. perflava</i> , <i>N. mucosa</i> , <i>N. flavescens</i>
<i>N. weaver</i>	

Tabel 10 *NEISSERIA SPECIES*

C. PERBEDAAN

2. *N. meningitides* (*Meningococcus*)

Penyakit yang disebabkan oleh kuman ini pertama kali ditemukan pada tahun 1805 di Geneva Swiss, dan disebut sebagai meningitides epidemika. Suatu tahun kemudian terjadi wabah di Medfield, Massachusetts, merupakan wabah yang terjadi pertama kali di Amerika Utara. Kuman penyebabnya baru ditemukan pada tahun 1887, waktu Weichselbaum menemukan diplokokus Gram negatif dalam LCS penderita. Penyakit yang disebabkan oleh *Meningococcus* tersebar luas di dunia, dapat bersifat sporadis atau epidemik. Orang dewasa pembawa kuman (carrier) dalam nasofaring merupakan sumber penularan penting kuman ini dan juga merupakan reservoir pencemaran kuman bagi peralatan rumah tangga. Penyakit ini paling banyak ditemukan pada anak-anak berumur 6-24 bulan.

2. *N. gonorrhoeae* (Gonococcus)

Merupakan kuman berbentuk ginjal dengan garis tengah 0,8 um. Selalu berpasangan sehingga disebut diplokokus. Tidak bergerak secara aktif dan tidak berspora. Strain yang virulen, yang terutama berasal dari isolasi primer, mempunyai pili pada permukaan selnya. Strain hasil subkultur, tidak atau hanya sedikit mempunyai pili. Dengan pili kuman dapat menempel pada sel epitel uretra, mukosa mulut atau sperma. Pili juga dapat menghambat fagositosis dan dapat merupakan alat pemindah plasmid dengan cara konjugasi antara sesama gonokokus atau antara gonokokus dengan *E. coli*. Gonokokus mempunyai beberapa plasmid, salah satu di antaranya merupakan pembawa gen resisten yang berperan pada pembuatan penisilinase atau beta- laktamase isolasi primer gonokokus dengan menggunakan perbenihan yang diperkaya, akan tumbuh koloni kuman yang berbentuk cembung, mengkilat, bersifat mukoid dan bergaris tengah antara 1-5 mm. Pada subkultur akan terbentuk koloni yang kurang cembung dan kurang mengkilat. Kuman ini bersifat aerob atau mikroaerofilik, untuk tumbuhnya perlu suasana udara dengan kadar CO₂ kurang lebih 5%. Gonokokus juga sangat peka terhadap antibiotik dalam suatu perbenihan perlu penambahan beberapa zat atau pewarna tertentu. Secara epidemiologis, kenyataan ini dapat dipakai untuk menentukan atau untuk identifikasi penyebab GO di berbagai tempat yaitu dengan cara menguji kemampuan tumbuhnya pada beberapa perbenihan yang masing- masing mengandung zat atau senyawa tertentu.

Daya tahan gonokokus terhadap lingkungan fisik atau kimiawi, ternyata sangat rendah. Gonokokus peka terhadap sinar matahari, pengeringan, pemanasan, suhu rendah dan perubahan pH. Kuman ini juga peka terhadap antiseptik tertentu, misalnya larutan AgNO₃ 1/40.000 dapat menghancurkannya dalam waktu 2 menit. Gonokokus juga cenderung mengalami autolisis dengan cepat.

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi gonokokus disebut gonore (GO), merupakan penyakit venerik yang paling sering dijumpai. Karena GO dan Sifilis seringkali ditemukan pada seorang penderita sekaligus, maka sampai awal abad ke-19, masih ada yang beranggapan bahwa etiologi kedua jenis penyakit tersebut sama. Baru pada tahun 1838 Ricord berhasil menghapuskan anggapan yang salah tersebut dengan membuktikan bahwa gonore dan sifilis merupakan dua jenis penyakit yang berbeda. Pernyataan tersebut dibuat setelah Ricord berhasil melakukan percobaan inokulasi pada lebih dari 2.500 orang sebagai sukarelawan. Pendapat ini diperkuat lagi setelah ditemukannya *Neisseria*

gonorrhoeae sebagai kuman penyebabnya pada tahun 1855 oleh Neisser, dan ditemukannya *Treponema pallidum* sebagai penyebab sifilis oleh Schaudinn dan Hoffman pada tahun 1905.

Penularan gonore terutama terjadi lewat kontak seksual. Masa tunas rata-rata 4 hari. Penderita mengeluh disuria dan mengeluarkan pus pada waktu miksi. Kadang-kadang timbul demam dan terjadi lekositosis, namun seringkali tidak dijumpai gejala sistemik lainnya. Sepuluh persen di antara penderita tidak menunjukkan gejala apapun (asimtomatik), dengan demikian berpotensi sebagai sumber penularan. Pengobatan secara adekuat dengan antibiotika yang tepat dapat mempercepat penyembuhan. Masa tunas pada wanita sukar ditentukan, pada karena umumnya tidak menunjukkan gejala. Bila ada gejala dapat berupa disuria atau poliuria, keluar getah dari vagina, demam atau nyeri perut. Dapat timbul komplikasi berupa radang pelvis yang merupakan kelanjutan infeksi yang terjadi dalam tuba fallopii. Keadaan ini merupakan penyebab utama terjadinya kemandulan di kemudian hari.

Bahan pemeriksaan untuk diagnosis dapat berasal dari secret uretra, konjungtiva atau serviks. Untuk kasus-kasus tertentu dapat diambil bahan dari cairan sinovia, darah atau bilasan lambung. Dari bahan pemeriksaan dibuat sediaan Gram dan kultur. Dalam sediaan Gram akan ditemukan diplokokus negatif Gram (DNG) intrasel lekosit polimorfonuklear dan DNG ekstrasel. DNG intrasel terutama ditemukan pada kasus-kasus akut. Untuk pemeriksaan mikroskopik ini dapat pula dilakukan tes fluoresensi zat anti. Sediaan DNG dicampur dengan IgG antigonokokus dan fluoressein isotiosianat. Kuman akan nampak berfluoresensi di bawah mikroskop fluoresen.

Kultur dapat dilakukan pada perbenihan Thayer Martin (TM) atau pada New York City Medium (NYCM). Kemudian pelat dimasukkan ke dalam pengeram 37°C dengan suasana udara berkadar CO₂ kurang lebih 5%, yaitu dalam sungkup lilin biasa atau dalam incubator CO₂. Pertumbuhan koloni gonokokus dapat dilihat setelah pengeraman selama 24 jam atau 48 jam. Terhadap koloni tersangka dilakukan tes oksidase dan penanaman pada gula-gula. Koloni tersangka *N. gonorrhoeae* menunjukkan hasil tes oksidase dan glukosa positif, sedangkan maltosa dan sakarosa negatif.

Jika letak tempat pengambilan bahan pemeriksaan jauh dari laboratorium, maka diperlukan perbenihan transpor. Bahan pemeriksaan yang disimpan dalam perbenihan transpor dalam lemari es dapat tahan selama 24 jam. Namun sampai di lab. Bahan

tersebut harus segera ditanam pada agar coklat, TM atau NYCM. Beberapa contoh perbenihan transpor ialah Stuart, Carry-Blair, dan Amies (charcoal). Perbenihan Stuart mengandung agar, asam tioglikolat, NaOH (untuk menetralkan asam tioglikolat) buffer gliserofosfat 1/100 dan CaCl_2 dengan konsentrasi 1/10.000. Komposisi di atas memberikan suasana reduksi dan diharapkan kuman dalam bahan pemeriksaan dapat bertahan lebih lama didalamnya. Sementara itu lidi kapas untuk pengambilan bilan bahan pemeriksaan perlu dicelupkan ke dalam larutan charcoal 1% guna menetralkan efek bakterisid dari agar. Komposisi perbenihan Carry- Blair hampir sama dengan Stuart, hanya asam tioglikolat dan NaOH diganti dengan Sodium tioglikolat. Sedangkan perbenihan Amies merupakan perbenihan *Carry-Blair* yang ditambah charcoal 1%.

Tes Oksidase

Sitokrom oksidase merupakan hemoprotein yang mengandung zat besi dan merupakan rantai akhir respirasi aerob, yaitu dengan mentransfer elektron (hidrogen), kemudian bereaksi dengan oksigen dan membentuk molekul air. Sistem sitokrom dapat ditemukan pada mikroorganisme aerob atau fakultatif anaerob. Tes oksidase penting untuk identifikasi mikroorganisme yang tidak membuat enzim ini, atau mikroorganisme obligat anaerob. Jadi dapat dipakai untuk membedakan koloni *Enterobacteriaceae* (negatif) dari koloni *Pseudomonas* sp. (positif). Pada tes oksidase dipakai larutan tetrametil p-fenilendiamin dihidroklorida 1% (Kovacs) atau dimetil p-fenilendiamin dihidroklorida 1% (Gordon & McLeod) sebagai reagen. Reagen yang kedua lebih toksik jika dibandingkan dengan reagen yang pertama. Senyawa aromatik amin ini berlaku sebagai penerima elektron; dalam keadaan tereduksi senyawa ini tidak berwarna. Jika kemudian karena adanya sitokrom oksidase dan oksigen dari udara senyawa ini teroksidasi, maka akan nampak berwarna ungu, ungu tua sampai kehitam-hitaman. Dengan adanya perubahan warna ini, hasil tes oksidase dinyatakan positif.

D. PEMERIKSAAN NEISSERIA (Gonococcus, Meningococcus)

Pra Analitik

Bahan Pemeriksaan :

Hapus urogenital (uretra, vagina, serviks), endapan urine, cairan sendi, darah, eksudat mata, hapus tenggorokan.

Identifikasi berdasarkan atas :

1. Pemeriksaan mikroskopik dengan Gram
2. Pembiakan
3. Uji Oksidase
4. Uji Biokimiawi
5. PPNG tes (Betalaktamase tes)

Analitik:

Pemeriksaan mikroskopik pemeriksaan mikroskopik dengan pengecatan Gram dari bahan langsung (direct-preparate), hasilnya sebagai berikut: bentuk kokus berpasangan (diplococcus) seperti buah kopi atau ginjal, Gram negatif, biasanya intraseluler dalam leukosit.

1. Pembiakan Perbenihan yang dipakai :
 - a. Agar coklat (G.C. Agar)
 - b. Agar coklat dari Thayer-Martin
 - c. *Cystine Trypticase Agar* (CTA).
 - d. Bahan pemeriksaan ditanam pada agar coklat, agar coklat Thayer-Martin dan agar darah sebagai kontrol.
 - e. Dieramkan pada suhu 35°-37°C selama 2 malam dengan ditambah CO₂ (2-10%) di dalam eksikator yang di bawahnya diberi kapas basah supaya menjadi lembab. Atau bisa juga dengan menyalakan lilin dalam eksikator yang apabila lilin mati berarti O₂ telah habis terbakar, konsentrasi CO₂ yang tercapai kira-kira 2% saja. Agar darah dieramkan seperti biasa (aerob), kalau tumbuh pada perbenihan berarti *Neisseria* apathogen. Pada agar coklat dan Thayer-Martin setelah tumbuh tampak koloni bulat, dengan diameter 2-3 mm, jernih mengkilat.
 - f. Dari koloni tersebut selanjutnya ditanam subkultur pada agar coklat dan Thayer-Martin.
2. Uji Oksidase

Reagen *tetrametil-p-finildiamin dihidroklorida* 1% dengan hati-hati diteteskan di atas koloni bakteri. Bila tes positif maka koloni berubah mula-mula merah jambu, kemudian menjadi merah ungu dan akhirnya hitam sesudah kira-kira 5 menit.
3. Uji Biokimia

Hasil fermentasi pada CTA:

	<i>N. gonorrhoea</i>	<i>N. meningitidis</i>
Glukosa	+	+
Maltosa	-	+
Sakarosa	-	-

4. PPNG test (Uji Betalaktamase)

Tes ini gunanya untuk menentukan suku kuman *Neisseria gonorrhoea* yang resisten terhadap antibiotika penicillin. Suku kuman yang resisten merusak Penicilin dengan perantaraan enzim *Penicillinase (Betalaktamase)* menjadi senyawa yang tidak aktif.

Cara Kerja:

1. Buat suspensi *N. gonorrhoea* (umur 2 malam) dalam larutan 0,1 ml Penicilin 6000 µg/ml
2. Diamkan dalam suhu kamar selama 30 menit.
3. Tambahkan 2 tetes larutan kanji 1%
4. Kemudian tambah lagi 1 tetes larutan lugol (pro Gram) sampai terjadi warna biru.
5. Positif kalau warna biru hilang dalam waktu 10 menit dan Negatif kalau warna biru tetap tidak berubah.

Catatan :

bahan pemeriksaan untuk *N. meningitidis* adalah: liquor, hapus tenggorok dan Darah

Pasca Analitik

1. Membuat kesimpulan
2. Membuat laporan hasil identifikasi
3. Membersihkan alat dan bahan yang telah selesai digunakan

E. EVALUASI

1. Jelaskan perbedaan *Neisseria meningitidis* dan *Neisseria gonorrhoeae* dari
Staphylococcus dari
 - a. Warna
 - b. Koloni
 - c. Bentuk
 - d. Pertumbuhan pada media
2. Psikomotor = lembar observasi psikomotor

Diskripsi	1	2	3	4
Hasil Pengecatan	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Warna 2. Koloni 3. Bentuk 4. Pertumbuhan pada media	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Warna 2. Koloni 3. Bentuk 4. Pertumbuhan pada media	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Warna 2. Koloni 3. Bentuk 4. Pertumbuhan pada media	Memenuhi 4 kriteria berikut ini: 1. Warna 2. Koloni 3. Bentuk 4. Pertumbuhan pada media
Hasil Identifikasi	Memenuhi 1 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan warna benar 2. Pembacaan koloni benar 3. Pembacaan bentuk benar 4. Pembacaan Pertumbuhan benar 5. Menyimpulkan benar sampai pertumbuhan pada gula	Memenuhi 2 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan warna benar 2. Pembacaan koloni benar 3. Pembacaan bentuk benar 4. Pembacaan Pertumbuhan benar 5. Menyimpulkan benar sampai pertumbuhan pada gula	Memenuhi 3 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan warna benar 2. Pembacaan koloni benar 3. Pembacaan bentuk benar 4. Pembacaan Pertumbuhan benar 5. Menyimpulkan benar sampai pertumbuhan pada gula	Memenuhi ≥ 4 kriteria berikut ini: 1. Pembacaan warna benar 2. Pembacaan koloni benar 3. Pembacaan bentuk benar 4. Pembacaan Pertumbuhan benar 5. Menyimpulkan benar sampai pertumbuhan pada gula

3. Affektif = lembar observasi affektif

Diskripsi	1	2	3	4
Berperilaku Profesional	Peserta tidak melakukan tindakan sama sekali	Peserta melakukan 1-2 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	Peserta melakukan 3-4 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik	Peserta melakukan 5 langkah secara benar : 1. Menggunakan APD dengan lengkap 2. Melakukan prosedur secara berurutan dan sistematis 3. Menjaga kebersihan lingkungan 4. Berlaku sopan dan santun. 5. Menjalankan prosedur K3 dengan baik

JURNAL PRAKTIKUM BAKTERIOLOGI KLINIK

PRAKTIKUM: IDENTIFIKASI NEISSERIA Sp

NAMA :

TANGGAL :

NIM :

NO. BAHAN :

HARI I : / TGL

1. Pemeriksaan Mikroskopis

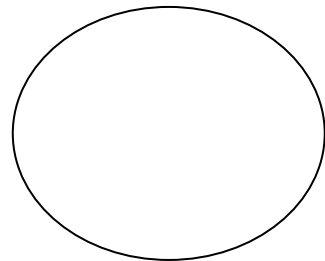
Bahan pemeriksaan dibuat preparat, kemudian diwarnai dengan pewarnaan \gram

Hasil pemeriksaan

Bentuk:

Susunan:

Sifat :



2. Isolasi

Bahan pemeriksaan ditanam pada media :

a.

b.

c.

Diinkubasi dalam incubator suhu 37°C selama satu malam (18-24 Jam) dalam suasana.....

HARI II : / TGL :

Pengamatan Hasil Isolasi

	Media :	Media :	Media :
Bentuk Koloni			
Warna Koloni			
Elivasi			
Sifat			

3. Uji Biokimiawi

Koloni tersangka ditanam pada media : Glukosa, Maltosa dan Sakarosa, selanjutnya diinkubasi selama 1 malam (18 – 24 Jam)

4. Uji Oksidase

Koloni tersangka ditetesi :.....

Hasilnya adalah :.....

5. Uji Betalaktase (PPNG test)

Prosedur :

HARI I : / TGL

Pengamatan hasil penanaman pada media :

Kesimpulan :

No. BAHAN :

Ditemukan Bakteri :

Diskusi :

Mengetahui Dosen

Praktikan / Mahasiswa

(.....)

(.....)

BAB IV

BAKTERIOLOGI MAKANAN MINUMAN

A. Pendahuluan

Salah satu sumber penularan penyakit dan penyebab terjadinya keracunan makanan adalah makanan dan minuman yang tidak memenuhi syarat higienis. Untuk mengetahui keadaan higienis makanan dan minuman dimaksud perlu dilakukan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan mikrobiologi makanan dan minuman yang meliputi pemeriksaan Angka Kuman, Most Probable Number (MPN) dan pemeriksaan biakan kuman. Sesuai dengan Kepmenkes No. 1098/Menkes/SK/VII/2003 tentang persyaratan hygiene sanitasi rumah makan dan restoran dimana angka kuman *E. coli* pada makanan 0 per gram. Peraturan ini diperkuat dengan Permenkes RI No 1096/Menkes/Per/VI/2011 tentang sanitasi jasa boga dengan ketentuan angka kuman *E. coli* pada makanan 0/gram. Penyakit yang ditimbulkan oleh makanan dan minuman disebabkan dua hal, yaitu adanya komponen beracun pada makanan dan minuman tersebut, misalnya bahan kimia beracun, dan logam berat. Kedua, adanya mikroorganisme patogen pada makanan dan minuman sehingga bisa menimbulkan penyakit pada manusia (Naria, 2005)

B. Tujuan

Untuk mengetahui keadaan higienis makanan dan minuman apakah memenuhi persyaratan atau tidak.

C. Kompetensi

1. Mahasiswa mengetahui macam- macam pemeriksaan bakteriologi pada makanan dan minuman
2. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan bakteriologi pada Makanan dan Minuman
3. Mahasiswa mampu meninterpretasikan hasil pemeriksaan Bakteriologi pada makanan dan minuman

D. Bahan Pemeriksaan

Makanan padat, makanan cair, minuman.

E. Alat, Media dan Reagensia

Alat-alat yang diperlukan :

- | | |
|--------------------------------|----------------------------------|
| 1. Mikroskop | 13. Cawan petri |
| 2. Otoklaf | 14. Water bath |
| 3. Inkubator | 15. Ose |
| 4. Timbangan | 16. Pipet ukur 1 cc, 5 cc, 10 cc |
| 5. Object-glass | 17. Coloni Counter |
| 6. Erlenmeyer 300 cc | 18. Kaca pembesar |
| 7. Gelas ukur | 19. Spidol |
| 8. Tabung reaksi | 20. Pisau |
| 9. Rak tabung reaksi | 21. Blender |
| 10. Botol steril (mulut besar) | 22. Pembuka kaleng/tutup botol |
| 11. Lampu spiritus | 23. Lemari es |
| 12. Pinset | |

Media dan Reagensia yang diperlukan :

1. Buffer fosfat, pH 7,2
2. Media untuk pemeriksaan Angka kuman: Plate Count Agar (PCA)
3. Media untuk pemeriksaan MPN (Lactose broth, atau Mac Conkey broth, Brilliant Green Lactose Bile broth (BGLB) 2%

PENGAMBILAN, PENANGANAN DAN PENGIRIMAN SPESIMEN

Cara Pengambilan Spesimen

1. Makanan Padat
 - a. Makanan yang akan diperiksa dipotong dengan pisau steril pada berbagai bagian dan mencakup setiap komponen dari makanan
 - b. Dengan alat yang steril, kumpulkan contoh makanan yang telah dipotong-potong tersebut sekurang-kurangnya 200 gr.
 - c. Masukkan dalam botol steril atau kantong plastik steril yang bertutup. Jika menggunakan kantong plastik steril membukanya tidak boleh ditiup.
2. Makanan Cair dan Minuman
 - a. Kocok botol atau wadah berisi makanan cair atau minuman
 - b. Tuangkan dalam wadah atau botol steril atau ambil dengan sendok steril makanan cair atau minuman tersebut sekurang-kurangnya 200 ml

Cara Penanganan dan Pengiriman Spesimen

- a. Wadah atau botol yang berisi spesimen (makanan padat, makanan cair, atau minuman) diberi label yang mencantumkan:
- b. Jenis spesimen
- c. Asal lokasi spesimen
- d. Nomor/Kode spesimen
 - a) Tanggal pengambilan spesimen
 - b) Petugas pengambilan spesimen
 - c) Jenis transport media yang digunakan
 - d) Pemeriksaan yang diminta
 - e) Kemudian wadah atau botol tersebut dimasukkan ke dalam wadah lain yang tidak pecah dan tidak mudah bocor, dengan diberi penyanggah berupa guntingankertas, serbuk kayu dan lain-lain
 - f) Bungkus wadah tersebut dan cantumkan alamat laboratorium yang dituju dengan jelas dan alamat pengirim :
 - g) Pengiriman spesimen dilaksanakan dengan memperhatikan sungguh-sungguh syarat-syarat pengiriman spesimen
 - h) Buat surat pengantar dengan alamat laboratorium yang dituju
 - i) Kirimkan segera ke alamat laboratorium yang dituju.
 - j) Prosedur Pemeriksaan, Pembacaan Hasil dan Pelaporan.

Pemeriksaan yang dilakukan meliputi:

1. Pemeriksaan Angka Kuman (Angka Lempeng Total/ALT)
2. Pemeriksaan Most Probable Number (MPN)
3. Pemeriksaan biakan :
 - a. *Coli*
 - b. *Salmonella sp.*
 - c. *Shigella sp.*
 - d. *V.cholera* dan *V. parahaemolyticus*
 - e. *Staphylococcus aureus*
 - f. *Clostridium perfringens* dan *Cl. Botulinum*
 - g. *Bacillus cereus*
 - h. *Enterococcus (Streptococcus faecalis)*

i. Kapang dan Khamir

Penyiapan Bahan Pemeriksaan

Makanan padat

- a. Spesimen yang diterima dihancurkan dengan menggunakan blender steril, apabila tidak ada blender dapat menggunakan mortir steril
- b. Masukkan 10 gram bahan tersebut ke dalam labu Erlenmeyer berskala
- c. Tuangkan 90 ml NaCl fisiologis atau aquadest steril atau buffer fosfat
- d. Untuk pemeriksaan *Bacillus cereus* harus menggunakan larutan buffer fosfat
- e. Kocok sebanyak ± 25 kali sampai homogen
- f. Bahan dengan pengenceran tersebut siap dipergunakan untuk pemeriksaan Angka Kuman, MPN dan Pemeriksaan Biakan.

Makanan Cair, atau Minuman

- a. Makanan cair atau minuman yang diterima dikocok terlebih dahulu
- b. Masukkan 10 ml bahan ke dalam labu Erlenmeyer berskala
- c. Tuangkan 90 ml NaCl fisiologis atau aquadest steril atau buffer fosfat. Untuk pemeriksaan *Bacillus cereus* harus menggunakan larutan buffer fosfat.
- d. Kocok sebanyak ± 25 kali sampai homogen
- e. Bahan dengan pengenceran tersebut siap dipergunakan untuk pemeriksaan Angka Kuman MPN, dan Pemeriksaan Biakan.

A. Pemeriksaan Angka Kuman atau Angka Lempeng Total (ALT)

Cara Pemeriksaan:

1. Siapkan 6 buah tabung reaksi steril dalam rak tabung, masing-masing tabung secara berurutan diberi tanda 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , sebagai kode pengenceran, dan tanggal pemeriksaan.
2. Siapkan 8 cawan petri steril. Pada 6 cawan petri diberi tanda sesuai dengan pengenceran dan tanggal pemeriksaan. Dua cawan petri sebagai kontrol
3. Pada tabung ke 2-6 diisi dengan dengan 9 ml NaCl fisiologis atau aquades atau buffer fosfat. Untuk pemeriksaan *Bacillus cereus* harus menggunakan larutan buffer fosfat.
4. Kocok bahan spesimen di atas dalam labu erlenmeyer sebanyak 25 sampai homogen. Ambil 10 ml masukkan ke dalam tabung ke-1.

5. Ambil 1 ml bahan spesimen yang telah dikocok ini dengan pipet, masukkan ke dalam tabung pertama, kocok sampai homogen
6. Pindahkan 1 ml bahan dari tabung ke-2 ke dalam tabung ke-3 dengan pipet, kocok sampai homogen.
7. Demikian seterusnya dilakukan sampai tabung ke-6. Pengenceran yang diperoleh pada keenam tabung adalah 101, 102, 103, 104, 105, 106
8. Dari masing-masing tabung di atas dimulai dari tabung ke-6, dengan menggunakan pipet steril diambil 1 ml dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri steril, sesuai dengan kode pengenceran yang sama.
9. Ke dalam masing-masing cawan petri dituangkan PCA cair yang telah dipanaskan pada $WB + 45^{\circ}C$ sebanyak 15-20 ml. Masing-masing cawan petri digoyang perlahan-lahan hingga tercampur merata dan biarkan sampai dingin dan membeku.
10. Masukkan dalam incubator $37^{\circ}C$ selama 2 x 24 jam dalam keadaan terbalik.
11. Kontrol 1 dibuat dari cairan pengencer yang digunakan (NaCl fisiologis, Aquadest, atau buffer fosfat) dimasukkan ke dalam cawan petri kontrol dan dituangi PCA cair sebanyak 15-20 ml dan kontrol 2 cawan petri diisi dengan PCA cair dengan volume yang sama. Untuk *B. cereus* harus menggunakan buffer fosfat.
12. Pembacaan dilakukan setelah 2 x 24 jam dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada tiap cawan petri.

3. Pembacaan Hasil

- Hitung jumlah koloni yang tumbuh pada tiap-tiap cawan petri.
- Koloni-koloni yang bergabung menjadi satu atau membentuk satu deretan/koloni yang terlihat sebagai garis tebal, atau jumlah koloni yang meragukan dihitung sebagai 1 (satu) koloni kuman
- Hitung jumlah koloni yang tumbuh pada cawan petri kontrol. Bila jumlah koloni pada cawan petri kontrol >10 maka pemeriksaan harus diulang, karena sterilitas dianggap kurang baik.
- Pemeriksaan ulang harus menggunakan PCA dari pembuatan yang lain

4. Pelaporan

- Pelaporan didasarkan pada perhitungan angka kuman yang diperoleh.
- Perhitungan hanya dilaksanakan pada cawan petri yang menghasilkan jumlah koloni antara 30-300 serta bila jumlah pada cawan petri kontrol <10 koloni.

- Jumlah koloni dari masing-masing cawan petri harus terlebih dahulu dikurangi dengan jumlah koloni pada cawan petri kontrol.

5. Contoh Perhitungan :

- Jumlah koloni yang tumbuh pada cawan petri:
 - Kontrol : 1 Koloni
 - 10^{-1} : 326 Koloni
 - 10^{-2} : 157 Koloni
 - 10^{-3} : 94 Koloni
 - 10^{-4} : 37 Koloni
 - 10^{-5} : 22 Koloni
- Angka Kuman =
$$\frac{(157-1) \times 100 + (94-1) \times 1000 + (37-1) \times 10.000}{3}$$

$$= \frac{15.600 + 93.000 + 360.000}{3}$$

$$= 156.200 \text{ kuman tiap gram atau ml}$$

B. Pemeriksaan Angka Paling Mungkin (APM)

1. Sampel : olahan ikan
2. Peralatan
 - a. waterbath tertutup dengan sirkulasi $45^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$;
 - b. inkubator $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$;
 - c. Blender beserta jar yang dapat disterilisasi atau stomacher ;
 - d. Botol pengencer
 - e. Tabung durham;
 - f. cawan petri
 - g. Tabung reaksi ukuran 16 mm x 150 mm dan 13 mm x 100 mm;
 - h. Timbangan dengan ketelitian 0,0001 g;
 - i. Mikroskop;
 - j. pipet atau pippetor 1ml, 5 ml dan 10 ml.
3. Media Reagensia
 - a. Brilliant Green Lactose Bile (BGLB)
 - b. Lauryl Tryptose Broth (LTB)

- c. EC Broth
 - d. Levine's Eosin Methylen Blue (L-EMB) agar
 - e. Tryptone (Tryptophane) Broth (TB)
 - f. MR-VP Broth
 - g. Simmon Citrate Agar
 - h. Plate Count Agar
 - i. Larutan Butterfield's Phosphate Buffered
 - j. Pereaksi Kovacs
 - k. Pereaksi VP
 - l. Indikator MR
 - m. Pereaksi pewarnaan gram
4. Tahapan pemeriksaan

PERISAPAN CONTOH

1. Untuk contoh dengan berat lebih kecil atau sama dengan 1 kg atau 1 l sampai dengan 4,5 kg atau 4,5 l timbang contoh padat sebanyak 25 g atau contoh cair sebanyak 25 ml dari contoh yang akan diuji , kemudian masukkan dalam wadah atau plastik steril dan tambahkan 225 ml larutan *Butterfield's Phosphate Buffered*
2. Untuk contoh dengan berat lebih besar dari 4,5 kg atau 4,5 l timbang contoh padat sebanyak 50 g atau contoh cair sebanyak 50 ml , kemudian masukkan dalam wadah atau plastik sterildan tambahkan 450 ml *larutan Butterfield's Phosphate Buffered*,
3. Homogenkan selama 2 menit. Homogenat ini merupakan larutan dengan pengenceran 10^1 .

TAHAP ANALISA

- a. Uji Pendugaan
 - 1) Siapkan pengenceran 10^2 dengan cara melarutkan 1 ml larutan 10^1 ke dalam 9 ml larutan pengencer *Butterfield's Phosphate Buffered*. Lakukan pengenceran selanjutnya sesuai dengan pendugaan kepadatan populasi contoh. Pada setiap pengenceran dilakukan pengocokan minimal 25 kali
 - 2) Pindahkan dengan menggunakan pipet steril, sebanyak 1 ml larutan dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri atau 5 seri tabung lauryl tryptose Broth (LTB) yang berisi tabung durham.
 - 3) Inkubasi tabung-tabung tersebut selama 48 jam $\pm$ 2 jam pada suhu $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

Perhatikan gas yang terbentuk setelah inkubasi 24 jam dan inkubasikan kembali tabung tabung negatif selama 24 jam. Tabung positif ditandai dengan kekeruhan dan gas dalam tabung durham.

b. Uji penegasan coliform (confirmed coliform)

1. Inokulasikan tabung-tabung LTB yang positif ke tabung-tabung BGLB Broth yang berisi tabung durham dengan menggunakan jarum ose. Inkubasi BGLB Broth yang telah diinokulasi selama 48 jam $\pm$ 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
2. Periksa tabung-tabung BGLB yang menghasilkan gas selama 48 jam $\pm$ 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Tabung positif ditandai dengan kekeruhan dan gas dalam tabungdurham.
3. Tentukan nilai angka paling memungkinkan (APM) berdasarkan jumlah tabung-tabung BGLB yang positif dengan menggunakan Angka Paling Memungkinkan (APM).
4. Nyatakan nilainya sebagai “APM/g coliform”

c. Uji pendugaan *Escherichia coli* (faecal col iform, presumptive *Escherichia coli*)

1. Inokulasikan dari setiap tabung LTB yang positif ke tabung-tabung EC Broth yang berisi tabung durham dengan menggunakan jarum ose,. Inkubasi EC Broth dalam waterbath sirkulasi selama 48 jam $\pm$ 2 jam pada suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Waterbath harus dalam keadaan bersih, air di dalamnya harus lebih tinggi dari tinggi cairan yang ada dalam tabung yang akan diinkubasi.
2. Periksa tabung-tabung EC Broth yang menghasilkan gas selama 24 jam $\pm$ 2 jam, jika negatif inkubasikan kembali sampai 48 jam $\pm$ 2 jam. Tabung positif ditandai dengan kekeruhan dan gas dalam tabung durham.
3. Tentukan nilai angka paling memungkinkan (APM) berdasarkan jumlah tabung-tabung EC yang positif dengan menggunakan Angka Paling Memungkinkan (APM).
4. Nyatakan nilainya sebagai “APM/g faecal coliform”

d. Uji penegasan *Escherichia coli* (confirmed *Escherichia coli*)

1. Dari tabung-tabung EC Broth yang positif dengan menggunakan jarum ose gores ke L-EMB agar. Inkubasi selama 24 jam $\pm$ 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} + 1^{\circ}\text{C}$.

2. Koloni *Escherichia coli* terduga memberikan ciri yang khas (typical) yaitu hitam pada bagian tengah dengan atau tanpa hijau metalik.
3. Ambil lebih dari satu koloni (typical) *Escherichia coli* dari masing-masing cawan L-EMB dan goreskan ke media PCA miring dengan menggunakan jarum tanam. Inkubasi selama 24 jam $\pm$ 2 jam pada suhu 35°C + 1°C.
4. Jika koloni yang khas (typical) tidak ada, pindahkan 1 atau lebih koloni yang tidak khas (typical) *Escherichia coli* ke media PCA miring.

e. Uji Morfologi

Lakukan uji morfologi dengan melakukan pewarnaan gram dari setiap koloni *Escherichia coli* terduga. Biakan diambil dari PCA yang telah diinkubasi selama 24 jam (butir 8.2.4b). Dengan menggunakan mikroskop, bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek atau coccus

f. Uji Biokimia

1. Produksi indol (I)
Inokulasikan 1 ose dari PCA miring ke dalam *Tryptone Broth* inkubasi selama 24 jam $\pm$ 2 jam pada suhu 35°C +1°C. Uji Indol dilakukan dengan menambahkan 0,2 ml – 0,3 ml pereaksi Kovacs. Reaksi positif jika terbentuk cincin merah pada lapisan bagian atas media dan negatif bila terbentuk cincin warna kuning.
2. Uji voges proskauer (VP)
Inokulasikan 1 ose dari PCA miring ke dalam MRVP Broth. Inkubasi selama 24 jam $\pm$ 2 jam pada suhu 35°C+1°C. Pindahkan sebanyak 1 ml dari setiap MRVP Broth yang tumbuh ke tabung reaksi ukuran 13 mm x 100 mm steril dan tambahkan 0,6 ml larutan alpha naphthol dan 0,2 ml 40 % KOH, kocok, tambahkan sedikit kristal kreatin untuk mempercepat reaksi. Kocok kembali dan diamkan selama 2 jam. Reaksi positif jika terbentuk warna merah muda eosin sampai merah mirah delima (ruby).
3. Uji methyl red (MR)
Inkubasikan kembali MRVP Broth di atas selama 24 jam $\pm$ 2 jam pada suhu 35°C+1°C. Tambahkan 5 tetes indikator Methyl red pada setiap MRVP Broth.

Reaksi positif jika terbentuk warna merah dan negatif jika terbentuk warna kuning.

4. Uji sitrat (C)

Goreskan 1 ose dari PCA miring ke permukaan Simmons citrat agar. Inkubasi selama 24 jam + 2 jam pada suhu 35°C + 1°C. Reaksi positif jika terjadi pertumbuhan dan media berubah warna menjadi biru, reaksi negatif jika tidak ada pertumbuhan dan media tetap hijau.

5. Interpretasi hasil

Kriteria	Biotipe 1	Biotipe 2
Indol	+	-
MR	+	+
VP	-	-
Citrat	-	-
Uji Morfologi	Gram negatif, bentuk batang pendek tidak berspora	Gram negatif, bentuk batang pendek tidak berspora

C. Pemeriksaan Identifikasi Kuman

Pemeriksaan identifikasi kuman pada makanan disesuaikan dengan persyaratan makanan dan minuman. Untuk cara kerjanya silahkan dilihat pada Bab sebelumnya

JURNAL PEMERIKSAAN MAKANAN DAN MINUMAN

1. NAMA : NIM :

2. NO..BAHAN :

3. MATERI UMUM :

4. TUJUAN UMUM :

5. ALAT :

6. MEDIA DAN REAGENSIA

7. PRINSIP

8. HASIL

1. PEMERIKSAAN ALT

- a.* Kontrol :
- b.* Pengenceran 10^1 :
- c.* Pengenceran 10^2 :
- d.* Pengenceran 10^3 :
- e.* Pengenceran 10^4 :
- f.* Pengenceran 10^5 :

Perhitungan

Kesimpulan :

2. PEMERIKSAAN ANGKA PALING MUNGKIN

- a.* Test Pendugaan :
- b.* Test Penegasan Coliform :
- c.* Test pendugaan *E.coli* :
- d.* Test Penegasan *E.coli* :
- e.* Uji Morfologi :

f. Uji Biokimia :

3. PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI KUMAN

Hari I :

Hari II :

Hari III :

Kesimpulan :

Dosen Pengampu,

Praktikan,

(.....)

(.....)

BAB V

UJI MOLEKULER (BTA)

1. Pendahuluan

a. Deskripsi

Pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM) adalah salah satu metode pemeriksaan diagnosis pasien TB Resisten Obat. Pemeriksaan dengan metode ini hanya membutuhkan waktu dua jam untuk mendapatkan hasil diagnosa pasien. Metode ini juga memiliki keunggulan karena sifatnya yang sensitif dan spesifik sehingga dapat mengidentifikasi keberadaan MTB dan resistensi terhadap rifampisin secara simultan. Namun pemeriksaan ini hanya dapat digunakan untuk mendiagnosis TB dan resistensi terhadap rifampisin secara cepat dan akurat, sehingga tidak dapat digunakan sebagai pemeriksaan lanjutan (monitoring) terhadap pasien yang mendapat terapi. Oleh sebab itu, diperlukan perluasan akses terhadap semua pasien TB yang dapat dilakukan dengan desentralisasi pemeriksaan TCM ke tingkat provinsi, kabupaten/kota dan faskes. Bagaimana persiapan sampel, pemeriksaan dan interpretasi hasil pemeriksaan TCM?. Mari kita pelajari modul ini dengan baik.

b. Petunjuk,

Berikut disampaikan langkah-langkah kegiatan dalam proses pembelajaran materi ini:

1. Sapa mahasiswa dengan ramah dan hangat oleh dosen / instruktur.
2. Sampaikan tujuan pembelajaran materi ini dan pokok bahasan yang akan dikerjakan, sebaiknya dengan menggunakan bahan tayang.
3. Sampaikan ruang lingkup bahasan dan tujuan pembelajaran tentang Pemeriksaan TB menggunakan metode biomolekuler (TCM) yang sebaiknya dengan menggunakan CTJ
4. Sampaikan paparan materi sesuai urutan pokok bahasan dan sub pokok bahasan dengan menggunakan bahan tayang. Kaitkan juga dengan pendapat/pemahaman yang dikemukakan oleh mahasiswa agar mereka merasa dihargai.
5. Berikan kesempatan kepada mahasiswa untuk menanyakan hal-hal yang kurang jelas.

6. Berikan jawaban jika ada pertanyaan yang diajukan peserta

c. Tujuan,

Setelah mengikuti materi ini, mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan Tuberkulosis (TBC) menggunakan alat TCM.

d. kompetensi

1. Menjelaskan Alur Pemeriksaan Untuk Diagnosis Tuberkulosis
2. Melakukan Keamanan dan Keselamatan Kerja Laboratorium Tuberkulosis
3. Melakukan Penanganan Spesimen (Pre Analisis)
4. Melakukan Pemeriksaan TCM Sesuai Prosedur (Analisis)
5. Melakukan Interpretasi Hasil Pemeriksaan TCM (Post Analisis)

2. Praktikum

a. Materi,

Berdasarkan WHO Global TBC Report 2021, kasus TBC di Indonesia pada tahun 2020 diperkirakan mencapai 824.000 kasus dengan insidensi 301 per 100.00 penduduk yang kemudian membawa Indonesia menjadi negara dengan jumlah kasus terbesar ketiga di dunia setelah India dan China. Pada laporan tahunan tersebut di juga diperkirakan 24.000 kasus TBC resistan obat (TBC RO), 18.000 kasus TBC dengan status HIV positif, cakupan pengobatan 47% dan keberhasilan pengobatan 83%.

Pemeriksaan sputum menggunakan alat TCM merupakan komponen penting dalam penerapan strategi percepatan penemuan dan pengobatan baik untuk menegakkan diagnosis. Teknologi molekuler dalam mendiagnosis TB sudah digunakan sejak beberapa waktu yang lalu. Namun demikian, metode yang digunakan terlalu kompleks untuk pemeriksaan rutin di negara berkembang. Tahapan pengolahan spesimen dan ekstraksi DNA mempersulit implementasi di negara dengan sumber daya terbatas. Saat ini, pemeriksaan TCM dengan *Xpert* MTB/RIF merupakan satu – satunya pemeriksaan molekuler yang mencakup seluruh elemen reaksi yang diperlukan termasuk seluruh reagen yang diperlukan untuk proses PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dalam satu katrid. Pemeriksaan *Xpert* MTB/RIF mampu mendeteksi DNA MTB kompleks secara kualitatif dari spesimen langsung, baik dari sputum maupun non sputum. Selain mendeteksi MTB kompleks, pemeriksaan *Xpert* MTB/RIF juga mendeteksi mutasi

pada gen *rpoB* yang menyebabkan resistansi terhadap rifampisin. Pemeriksaan *Xpert* MTB/RIF dapat mendiagnosis TB dan resistansi terhadap rifampisin secara cepat dan akurat, namun tidak dapat digunakan sebagai pemeriksaan lanjutan (monitoring) pada pasien yang mendapat pengobatan

Prinsip pemeriksaan *Xpert* MTB/RIF adalah deteksi molekuler berbasis nested real time PCR untuk diagnosis TB. Primer PCR yang digunakan mampu mengamplifikasi sekitar 81 bp daerah inti gen *rpoB* MTB kompleks, sedangkan probe dirancang untuk membedakan sekuen wild type dan mutasi pada daerah inti yang berhubungan dengan resistensi terhadap rifampisin.

Pemeriksaan tersebut dilakukan dengan alat *GeneXpert*, yang menggunakan sistem otomatis yang mengintegrasikan proses purifikasi spesimen, amplifikasi asam nukleat, dan deteksi sekuen target. Sistem tersebut terdiri atas alat *GeneXpert*, komputer dan perangkat lunak. Setiap pemeriksaan menggunakan katrid sekali pakai dan dirancang untuk meminimalkan kontaminasi silang. Katrid *Xpert* MTB/RIF juga memiliki *Sample Processing Control* (SPC) dan *Probe Check Control* (PCC). *Sample processing control* berfungsi sebagai control proses yang adekuat terhadap bakteri target serta untuk memonitor keberadaan penghambat reaksi PCR, sedangkan PCC berfungsi untuk memastikan proses rehidrasi reagen, pengisian tabung PCR pada katrid, integritas probe, dan stabilitas *dye*. Pemeriksaan *Xpert* MTB/RIF dapat mendeteksi MTB kompleks dan resistansi terhadap rifampisin secara simultan dengan mengamplifikasi sekuen spesifik gen *rpoB* dari MTB kompleks menggunakan lima probe molecular beacons (probe A – E) untuk mendeteksi mutasi pada daerah gen *rpoB*. Setiap molecular beacon dilabel dengan *dye fluorofor* yang berbeda. *Cycle threshold* (Ct) maksimal yang valid untuk analisis hasil pada probe A, B dan C adalah 39 siklus, sedangkan pada probe D dan E adalah 36 siklus. Hasil dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

- ✓ ‘MTB terdeteksi’ apabila terdapat dua probe memberikan nilai Ct dalam batas valid dan delta Ct min (selisih/perbedaan Ct terkecil antar pasangan probe) < 2.0
- ✓ ‘Rifampisin Resistan tidak terdeteksi’ apabila delta Ct maks (selisih/perbedaan antara probe yang paling awal muncul dengan paling akhir muncul) ≤ 4.0
- ✓ ‘Rifampisin Resistan terdeteksi’ apabila delta Ct maks > 4.0

- ✓ ‘Rifampisin Resistan indeterminate’ apabila ditemukan dua kondisi sebagai berikut:
 - Nilai Ct pada probe melebihi nilai valid maksimal (atau nilai 0)
 - Nilai Ct pada probe yang paling awal muncul > (nilai Ct valid maksimal – delta Ct maksimal cut-off 4.0)
- ✓ ‘Tidak terdeteksi MTB’ apabila hanya terdapat satu atau tidak terdapat probe yang positif. Pemeriksaan *Xpert* MTB/RIF sudah diatur secara otomatis sesuai dengan protokol kerja *Xpert* MTB/RIF dan tidak dapat dimodifikasi oleh pengguna

Sampel sputum diambil dari pasien yang sebelumnya sudah mendapatkan penjelasan cara pengambilan sputum dengan baik dan benar. Sputum umumnya bertekstur tebal dan mukoid, berbentuk cair atau mengandung material purulen. Warna bervariasi. Spesimen yang mengandung darah akan terlihat kemerahan atau coklat. Saliva tidak dapat digunakan sebagai spesimen untuk pemeriksaan TB

Penyimpanan spesimen pada suhu 35°C lebih dari 3 hari. Spesimen dapat bertahan selama 4-10 hari pada suhu 4°C. Apabila memungkinkan, spesimen dipertahankan pada suhu 2-8°C selama proses pengiriman ke laboratorium. Penyimpanan *Xpert* MTB/RIF pada suhu 2-8°C dan dapat bertahan selama 2 minggu setelah kemasan di buka. *Xpert* MTB/RIF tidak dapat digunakan apabila mencapai tanggal kadaluarsa.

Peringatan dan Tindakan Pencegahan untuk penggunaan *Xpert* MTB/RIF harus sesuai dengan petunjuk yang ada pada box kit. Cartridge harus segera diproses dalam waktu 4 jam setelah specimen dimasukkan kedalam cartridge.

b. Alat dan bahan

- Alat TCM
- Komputer atau laptop, yang telah berisi program GX Dx dan program lain yang dibutuhkan
- *Barcode scanner*
- Pot sputum
- Alat pelindung diri (jas lab, masker, sarung tangan)
- Penghitung waktu (timer)
- Label dan spidol
- *Biosafety cabinet (BSC), minimal BSC kelas II-A, biocontainment centrifuge*

- *Vortex*

c. Prosedur

1. Prosedur pengolahan spesimen sputum:

- a. Beri label identitas pada setiap katrid. Identitas spesimen dapat ditempel atau ditulis pada bagian sisi katrid. JANGAN memberikan label pada bagian barcode.
- b. Buka penutup pot sputum, tambahkan Sample Reagent yang sudah tersedia sebanyak 2 kali volume specimen

Catatan:

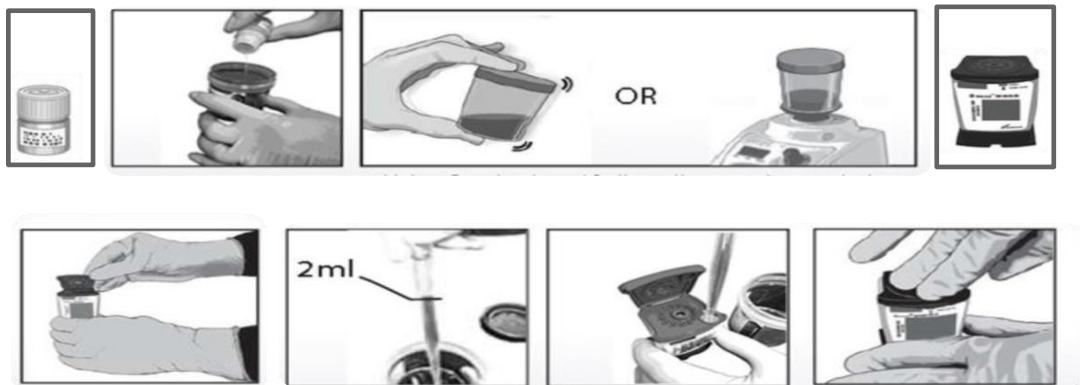
- 1 Sample Reagent untuk pengolahan 1 spesimen sputum.
 - Apabila volume sputum >4 ml, maka disarankan untuk membagi spesimen menjadi 2 bagian dan harus dilakukan dalam BSC. Satu bagian digunakan untuk pemeriksaan TCM, satu bagian lainnya disimpan dalam pot sputum baru sebagai cadangan.
- c. Tutup kembali pot sputum, kemudian kocok dengan kuat sampai campuran sputum dan Sample Reagent menjadi homogen.
 - d. Diamkan selama 10 menit pada suhu ruang.
 - e. Kocok kembali campuran, lalu diamkan selama 5 menit.
 - f. Bila masih ada gumpalan, kocok kembali agar campuran sputum dan Sample Reagent menjadi homogen sempurna dan biarkan selama 5 menit pada suhu kamar.
 - g. Buka penutup katrid, kemudian buka tempat penampung spesimen. Gunakan pipet yang disediakan untuk memindahkan spesimen sputum yang telah diolah sebanyak 2 ml (sampai garis batas pada pipet) ke dalam katrid secara perlahan-lahan untuk mencegah terjadinya gelembung yang bisa menyebabkan eror.
 - h. Tutup katrid secara perlahan dan masukan katrid ke dalam alat TCM.

Catatan:

- Spesimen yang sudah diolah dan masuk ke dalam katrid harus segera dimasukkan ke dalam alat TCM. Saat mengolah beberapa spesimen dalam satu waktu, pengisian spesimen ke dalam katrid dilakukan satu persatu. Tutup katrid terlebih dahulu sebelum mengisi katrid berikutnya.
- Jika terdapat sisa spesimen yang telah diolah, spesimen tersebut dapat disimpan selama 5 jam jika dibutuhkan pemeriksaan ulang

2. Analisis

- a. Prosedur umum
- b. Campurkan “sample reagent” dengan specimen dan inkubasi selama 15 menit pada suhu ruang
- c. Transfer ke dalam Xpert MTB/RIF cartridge
- d. Masukkan cartridge dan mulai tes
- e. Handling time = 2 menit
- f. Cartridge yang sudah siap harus dimasukkan ke dalam sistem dalam 30 menit



Gambar 13 Proses Pemeriksaan TCM

3. Material Kontrol

- a. Kontrol positif eksternal : QC organisme seperti ATCC 27290 – BCG Copenhagen
- b. Kontrol negatif eksternal :
 - ATCC SmT Mc2 2500 seperti *Mycobacterium avium*
 - ATCC 35790 or 35771 seperti *Mycobacterium intracellulare*
 - ATCC 2278 seperti *Mycobacterium xenopii*
 - ATCC 12478 seperti *Mycobacterium kansasii*

4. Pembacaan hasil pemeriksaan

Hasil pemeriksaan *Xpert* MTB/RIF adalah sebagai berikut :

- MTB Detected Rif Resistance Detected
- MTB Detected Rif Resistance Not Detected
- MTB Detected Rif Resistance Indeterminate
- Negative
- Invalid
- Error

- No Result

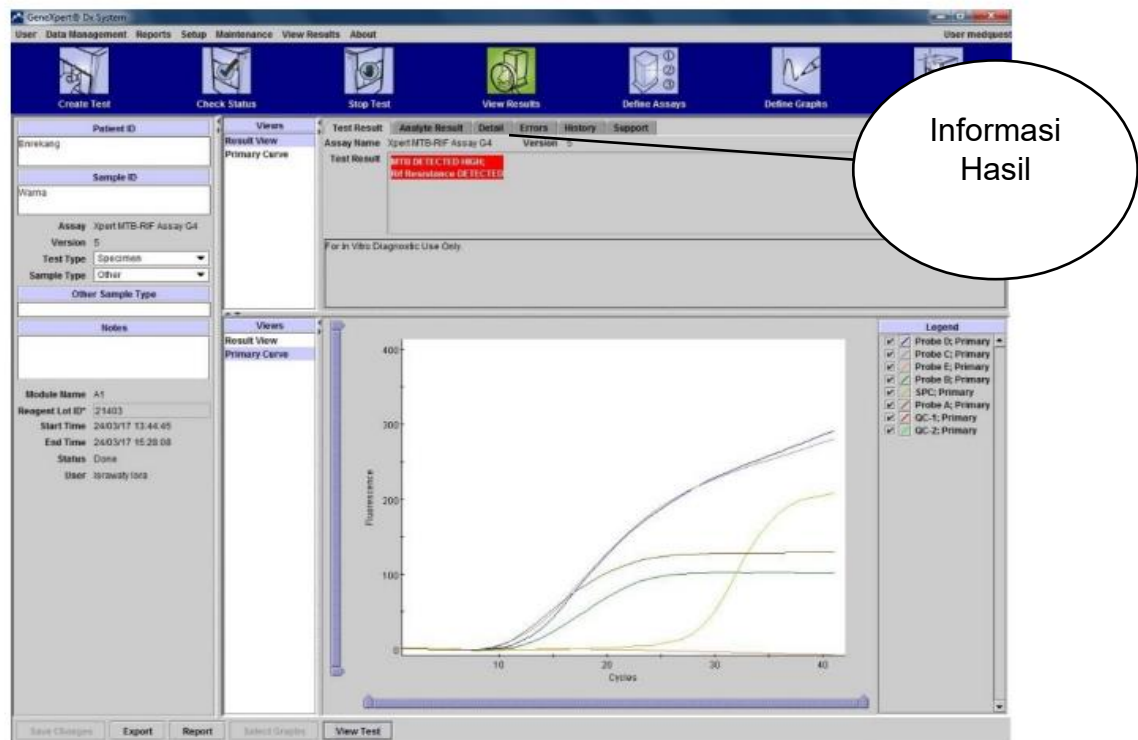
Analisis studi *Xpert* MTB/RIF

- Sensitifitas analitis adalah 131 CFU/mL dengan 95% confidence interval antara 106.2 CFU to 176.4 CFU.
- Spesifisitas analitis (Eksklusifitas) dari 18 kultur strain MOTT yang diuji, semuanya terlapor sebagai MTB negatif.
- Inklusifitas analitis: *Xpert* ® MTB/RIF secara tepat mendeteksi semua tipe strain MTB strains and isolat rifampicin resistan

Tabel 11 Hasil dan Interpretasi Pemeriksaan TCM

Hasil	Interprestasi	Tindak lanjut
MTB DETECTED; Rif Resistance DETECTED	DNA MTB terdeteksi Mutasi gen rpoB terdeteksi, kemungkinan besar resistan terhadap rifampisin	Lanjutkan sesuai dengan alur diagnosis TB resistan obat
MTB DETECTED; Rif Resistance NOT DETECTED	DNA MTB terdeteksi Mutasi gen rpoB tidak terdeteksi. Kemungkinan besar sensitif terhadap rifampisin	Lanjutkan sesuai dengan alur diagnosis TB biasa
MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE	DNA MTB terdeteksi Mutasi gen rpoB / resistansi rifampisin tidak dapat ditentukan karena sinyal penanda resistansi tidak cukup terdeteksi	Ulangi pemeriksaan*) secepatnya menggunakan spesimen sputum baru dengan kualitas yang baik
MTB Not Detected	DNA MTB tidak terdeteksi	Lanjutkan sesuai alur diagnosis TB
INVALID	Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan karena kurva SPC tidak	INVALID (Gambar 5.26) Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan

	menunjukkan kenaikan jumlah amplikon, proses sampel tidak benar, reaksi PCR terhambat	karena kurva Ulangi pemeriksaan dengan katrid dan spesimen sputum baru*), pastikan spesimen tidak terdapat bahan-bahan yang dapat menghambat PCR
ERROR	Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan, quality control internal gagal atau terjadi kegagalan sistem	Ulangi pemeriksaan dengan katrid baru*), pastikan pengolahan spesimen sudah benar (lihat BAB VI.B. Penyelesaian Masalah)
NO RESULT (Gambar 5.28)	Keberadaan DNA MTB tidak dapat ditentukan karena data reaksi PCR tidak mencukupi	Ulangi pemeriksaan dengan katrid baru*)



Gambar 15 Deteksi DNA *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) kompleks dan *Mycobacterium tuberculosis* yang resisten Rifampicin.

- Semi Quantitative in vitro Diagnostic test
- Spesimen (contoh uji): sputum yang diambil dengan induksi
- Mendeteksi rpoB merupakan gen yang bertanggung jawab pada timbulnya sifat resistensi MTB terhadap Rifampicin.

Xpert[®] MTB/RIF digunakan untuk pemeriksaan spesimen sputum pasien yang secara klinis didiagnosis tersangka TB. Teknik real-time PCR dengan pembacaan fluoresensi, Tanpa perpindahan cairan antara cartridge dengan instrumen *Closed System*. Teknologi ultrasonic horn untuk lisis membran sel bakteri. Sistem internal kontrol terintegrasi dalam cartridge (Tidak membutuhkan eksternal positif maupun negatif kontrol terpisah)

- Smart fluidics, Aliran cairan diarahkan oleh katup mikro – sehingga sejumlah mikro komponen bereaksi
- Reduksi data dan interpretasi hasil otomatis
- Volume perspesimen sputum minimal 1 ml

- Jangan menerima spesimen yang mengandung sisa makanan
- Jangan biarkan spesimen pada suhu 35 °C lebih dari 3 hari. Spesimen dapat bertahan selama 4-10 hari pada suhu 40C
- Apabila memungkinkan, spesimen dipertahankan pada suhu 2–8⁰C selama proses pengiriman ke laboratorium.
- Assay *Xpert* MTB/RIF belum pernah dievaluasi menggunakan spesimen dengan pemrosesan yang berbeda dari yang dijelaskan pada dokumen terlampir
- Penutup (Lid) pada cartridge hanya boleh dibuka pada saat akan memasukkan spesimen yang sudah di dekontaminasi
- Cartridge yang sudah berisi spesimen harus segera diproses ke dalam mesin *GeneXpert* dengan waktu tunggu maksimal 4 jam sejak spesimen dimasukkan ke dalam cartridge
- Cartridge tidak boleh digunakan apabila:
 - Permukaan telah basah dan kotor
 - Segel penutup (Lid) rusak
 - Bagian PCR filling tube (ekor) rusak
 - Terbalik dan/atau terjatuh (pada saat sudah berisi spesimen)
 - Sudah pernah digunakan

Selalu perlakukan cartridge yang telah berisi spesimen sebagai materi yang berbahaya

3. Evaluasi

1. Apa metode yang umumnya digunakan dalam test cepat molekuler untuk TB
 - a. PCR (Polymerase Chain Reaction)
 - b. ELISA
 - c. MRI
 - d. CT Scan
2. Apa tujuan utama dari test cepat molekuler untuk tuberculosis?
 - a. Menilai fungsi paru-paru
 - b. Mendeteksi DNA *M.tbc*
 - c. Menilai respon antibodi
 - d. Menemukan kadar zat kimia dalam darah
3. Berapa waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan hasil test cepat molekuler
 - a. Beberapa hari
 - b. Beberapa minggu
 - c. Beberapa bulan
 - d. Hasil langsung jadi

4. Berapa waktu harus segera diproses dalam setelah specimen dimasukkan kedalam cartridge ?
- a. 4 jam
 - b. 10 jam
 - c. 1 jam
 - d. 2 jam
5. Berapa lama spesimen sputum dapat bertahan bila disimpan suhu 4°C ?
- a. 4-10 hari
 - b. 1 hari
 - c. 1-3 hari
 - d. 12 hari

4. Penutup

- TCM merupakan test cepat molecular untuk diagnose penyakit TB. Teknik real-time PCR dengan pembacaan fluoresensi, Tanpa perpindahan cairan antara cartridge dengan instrumen *Closed System*. Selain untuk dianosa penyakit TB TCM juga dapat mendeteksi resistensi Rifampisin.

BAB VI
UJI RESISTENSI
KONSENTRASI HAMBATAN MINIMAL (KHM)
Minimal Inhibitor Concentration (MIC)

PENDAHULUAN

Uji resistensi merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik. Penggunaan antibiotik yang berlebih atau tidak terkendali menyebabkan efek samping yang berbahaya, yang menyebabkan bakteri- bakteri tertentu resisten (tahan) terhadap antibiotik. Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri beradaptasi dan mengembangkan kemampuan untuk melawan balik obat yang dirancang untuk membunuh mereka. Artinya, bakteri menjadi kebal dan tidak bisa sembuh.

Bakteri yang resisten ini dapat terus tumbuh dan berkembang biak. Bahkan bakteri ini bisa saja menyebar ke orang lain. Karena itu, yuk pelajari lebih lanjut mengenai kondisi ini. Pada saat sekarang ini telah banyak cara-cara penentuan kepekaan kuman terhadap suatu obat atau penentuan kadar obat terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan kuman secara invitro. Masing-masing cara mempunyai kelebihan dan kekurangannya. Dalam hal ini WHO telah menetapkan suatu standar yang memungkinkan semua laboratorium meninjau cara-cara mereka, sehingga hasil yang dilaporkan akan mempunyai satu dasar yang sama.

Cara penentuan terhadap obat-obatan yang lazim digunakan adalah :

1. Cara cakram

Cara ini adalah cara yang paling banyak dilakukan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Disini digunakan cakram kertas saring atau tablet yang mengandung suatu obat dengan kekuatan tertentu yang diletakkan pada lempeng agar yang telah ditanami kuman yang akan diperiksa.

Hambatan akan terlihat sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan kuman di sekitar cakram. Lebar daerah hambatan ini tergantung pada daya serap obat ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut.

2. Cara penipisan agar lempeng

Prinsip dari cara ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman pada permukaan agar terhadap obat yang dicampurkan ke dalam perbenihan. Biasanya disediakan satu seri

lempeng agar dengan penipisan yang berbeda- beda. Berbeda dengan cara cakram, cara penipisan lempeng agar ini adalah penentuan konsentrasi terkecil hambatan dari suatu obat (MIC = minimal inhibitor concentration) terhadap beberapa kuman secara kuantitatif

3. Cara Pengenceran tabung

Sebagaimana halnya dengan cara penipisan lempeng agar, cara pengenceran tabung ini juga menentukan secara kuantitatif konsentrasi terkecil suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman.

Prinsip dari cara ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam perbenihan cair oleh suatu obat yang dicampurkan ke dalam perbenihan. Perbenihan yang dipakai harus merupakan perbenihan yang dapat angka atau huruf bukan tanda strip menumbuhkan kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang dipergunakan

1. Cara Cakram Kirby Bauer

Alat dan Bahan

1. Lempeng agar Mueller Hinton (MH)
2. Lidi kapas
3. Lampu spiritus
4. Tabung reaksi steril
5. Cakram antibiotik
6. Strain bakteri

Cara kerja

1. Buat suspensi kuman sampai sesuai dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 atau 1
2. Tanam kuman tersebut dengan lidi kapas pada agar MH
3. Tempelkan disk antibiotik pada lempeng agar MH tersebut
4. Inkubasi 37°C selama 1 malam
5. Amati adanya pertumbuhan kuman atau adanya hambatan dari antibiotik.
6. Ukur dan catat diameter gelanggang hambatan (dalam satuan mm)

2. Cara Tabung

Alat dan Bahan

1. Tabung reaksi steril
2. Pipet 1 cc, 10 cc steril
3. Lampu spiritus

4. Antibiotik
5. Suspensi kuman
6. TSB (trypticase soy broth)

Cara kerja

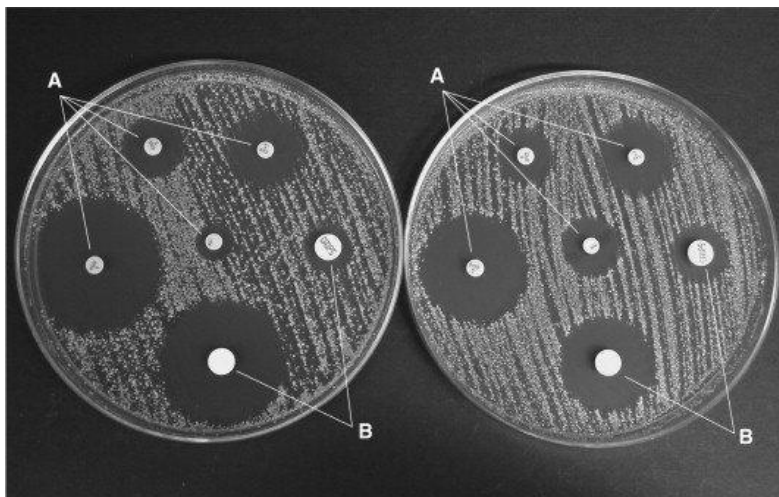
1. Masukkan TSB ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 2 ml
2. Masukkan antibiotik yang sudah ditimbang: 50 mg, 40 mg, 30 mg, 20 mg, 10 mg, 5 mg
3. Campur sampai merata
4. Masukkan 0,5 ml suspensi kuman ke dalam masing- masing tabung tersebut
5. Kocok sampai merata
6. Inkubasi 37°C selama 1 malam (18-24 jam)
7. Amati adanya pertumbuhan kuman

Pembuatan suspensi bakteri dan Perbandingan dengan standar Mac farland

- 1) Pijarkan ose pada lampu spiritus lalu dinginkan kembali
- 2) Koloni bakteri pada media MC diambil menggunakan ose tersebut dan masukan dalam tabung reaksi yang berisi NaCL 0,95%
- 3) Homogenkan dengan ose lalu dibandingkan dengan standar Mac Farland yang telah dibuat sebelumnya
- 4) Perbandingan kekeruhan antara 2 larutan tersebut diamati dan hasil kekeruhan harus disamakan.



Gambar 15 penanaman kuman dengan lidi kapas



Gambar 16. Zona Pemeriksaan Resistensi cara Cakram Kirby Bauer

<https://www.dictio.id/t/bagaimana-cara-pengukuran-aktivitas-antibakteri/121812/2>

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN RESISTENSI

PRAKTIKUM: NAMA :

TANGGAL : NIM :

NO. BAHAN :

TUJUAN UMUM :

METODE :

MEDIA :

REAGENSIA :

ALAT :

BAHAN :

PROSEDUR :

HASIL :

NO	NAMA ANTIBIOTIK	DIAMETER (mm)	KETERANGAN

KESIMPULAN :

Mengetahui Dosen

Praktikan / Mahasiswa

(.....)

(.....)

GLOSARIUM

- *BTA* : *Bakteri Tahan Asm*
- *TB* : *Tuberkulosis*
- *CTJ* : *Ceramah Tanya Jawab*
- *S* : *Sewaktu*
- *P* : *Pagi*
- *SS* : *Sewaktu – Sewaktu*
- *SP* : *Sewaktu Pagi*
- *PS* : *Pagi Sewaktu*
- *PB* : *Pauci Basiler*
- *MB* : *Multi Basiler*
- *BTA* : *Bakteri Tahan Asam*
- *BI* : *Bacteriological Index*
- *MI* : *Morphological Index*
- *PCR* : *Polymerase Chain Reaction*
- *Aerob* : *mikroba yang membutuhkan molekul oksigen bebas untuk hidupnya*
- *Anaerob* : *mikroba yang tidak membutuhkan molekul oksigen bebas untuk hidupnya*
- *Antibiotik* : *senyawa organik yang dihasilkan oleh mikroba yang mampu menghambat atau membunuh mikroba lain*
- *Antigen* : *zat yang dapat merangsang sistem imunitas tubuh untuk menghasilkan antibodi sebagai bentuk perlawanan*
- *Aerob fakultatif*: *mikroba yang mampu hidup dalam dua kondisi yaitu dengan adanya oksigen dan tanpa adanya oksigen (anaerob).*
- *TCM* : *Tes Cepat Molekuler*
- *MTB* : *Mycobakterium Tuberculosis*
- *PCR* : *Polymerase Chain Reaction*
- *RO* : *Resisten Obat*

DAFTAR PUSTAKA

- "Kusta (penyakit Hansen) – Buku Biru – Departemen Kesehatan dan Pelayanan Kemanusiaan, Victoria, Australia" . ideas.health.vic.gov.au . Diarsipkan dari versi asli tanggal 8 November 2015 . Diakses pada 17 November 2015 .
- AACC Laboratorium Test Online. Acid Fast Bacillus Testing. 2020. Available at: <https://labtestsonline.org/tests/acid-fast-bacillus-afb-testing>
- American Society for Microbiology. 2016. Blood Agar Plates and Hemolysis Protocols.
- Mahon, Connie R., and Donald C. Lehman. 2019. Textbook of Diagnostic Microbiology Sixth Edition. 6th ed. Elsevier Inc.
- Achi, R., L. Mata, X. Siles, and A. A. Lindberg. 1996 Immunomagnetic separation and PCR detection show Shigella to be common fecal agents in children from urban marginal communities of Costa Rica J. Infect. 32 211–218
- Affan, Q.A., E. Shoeb, U. Badar and J. Akhtar, 2009, Isolation and Characterization of Bacterial Isolates Having Heavy Tolerance, Journal of Basic and Applied Sciencis,
- Agrawal Ravi Kant. 2019. Escherichia coli. Food Microbiology Laboratory Division of Livestock Products Technology ICAR-Indian Veterinary Research Institute
- Alitaqwm. 2011. Kariogenitas Karbohidrat. Diakses melalui [https:// https://dentosca.wordpress.com/2011/09/05/kariogenitas-karbohidrat/](https://https://dentosca.wordpress.com/2011/09/05/kariogenitas-karbohidrat/)
- Al-Sallami, S. 1989 Shigellae and Vibrionaceae species as a cause of diarrhoea among children in Aden J. Egypt. Public Health Assoc. 64 381–389
- Bachti Alisjahbana, dr., Sp.PD-KPTI, Ph.D.,Panji Hadisoemarto, dr., MPH.,Bony Wiem Lestari, dr., MSc.,Nur Alifah, dr. Zuhaira Husna Fatma, dr.Wulan Sari Nur Azkiyah, S. Gr., M.Sc. Deny Fattah, S.KM., Nury Fitria Dewi, S. Kep., Ns., Eka Saptiningrum, S. Kep, Ns.” Diagnosis Dan Pengelolaan Tuberkulosis” Unpad Press Grha Kandaga ISBN 978-602-439-918-4
- Brooks, G., Carroll, K., Butel, J., Morse, S & Mietzner, T. 2010. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: EGC.
- Brown MRW (ed): Resistensi Pseudomonas aeruginosa . John Wiley & Putra, New York, 1975 .
- Cappucino, JG & Sherman, N. 2014. Microbiology A Laboratory Manual 10 th edition. San Fransisco: Pearson
- Cappucino, JG & Sherman, N. 2014. Microbiology A Laboratory Manual 10 th edition. San Fransisco: Pearson
- CDC (Center for Disease Control and Prevention). Core Curriculum on Tuberculosis : What the Clinician Should Know. 6th edition. Chapter 4 Diagnosis of Tuberculosis Disease page 75-104. 2013. Available at <https://www.cdc.gov/tb/education/corecurr/pdf/chapter4.pdf>
- Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM.2013. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. Clin Microbiol Rev. 26:547-603.

- Clarke PH, Richman MN (eds): Genetika dan Biokimia Pseudomonas . John Wiley & Putra, New York, 1975.
- Ernawati A.Giri. 2008. Interaksi Mikroba dan Manusia sebagai sel inang. Diakses melalui <https://slideplayer.info/slide/3278922/>
- Evi,A.E.‘Analisis Multidrug Resistensi Terhadap Antibiotik Pada Salmonella Typhi Dengan Teknik Multiplex PCR’, 1.1 (2013), 51–60.
- Fitri, S. 2015. Analisis Penatalaksanaan Program Penanggulangan Tuberkulosis Multi Drug Resisten (TB-MDR) di Puskesmas Helvetia: Medan.
- Fournout S., C. M. Dozois, M. Odin , C. Desautels, S. Peres, F. Herault, F. Daigle , C. Segafredo, J. Laffite, E. Oswald, J. M. Fairbrother and I. P. Oswald. 2000. Lack of a Role of Cytotoxic Necrotizing Factor 1 Toxin from Escherichia coli in Bacterial Pathogenicity and Host Cytokine Response in Infected Germfree Piglets. *Infectin and Immunity* 68: 839-847.
- Frade MA, Coltro PS, Filho FB, Horácio GS, Neto AA, da Silva VZ, dkk. (2022). "Fenomena Lucio: Tinjauan literatur sistematis tentang definisi, gambaran klinis, histopatogenesis dan manajemen". *Jurnal Dermatologi, Venereologi dan Leprologi India*. 88(4): 464–477. doi: 10.25259/IJDVL_909_19 . PMID34672479. S2CID239051859
- Froes LA, Sotto MN, Trindade MA (2022). "Kusta: ciri klinis dan imunopatologis" . *Anais Brasileiros de Dermatologia* . 97 (3):338347. doi : 10.1016/j.abd.2021.08.006 . PMC 9133310 . PMID 35379512
- G, Nathani N. Clinical review : tuberculosis on the intensive care unit Hagan care 2012; 17(5): 240.Doi:10.1186/cc12760
- Gillespie, SH and Bamford, KB. (2000) Medical Microbiology and Infection at a Glance Janett P Gillespie M.B. MRCP, General Practitioner London
- Girard F, I. Batisson, J. Harel and J.M. Fairbrother. 2003. Use of Egg Yolk-Derived Immunoglobulins as an Alternative to Antibiotic Treatment for Control of Attaching and Effacing Escherichia coli Infection. 103rd General Meeting of American Society for Microbiology, Washington D.C. Virginie, USA.(Abstract).
- Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (1992). *Penyakit menular* . Philadelphia: Saunders. P. 1882.ISBN _ 0-7216-4168-7. OCLC 22346573
- Hancock REW, Mutharia LM, Chan L. dkk. Pseudomonas aeruginosa diisolasi dari pasien dengan fibrosis kistik: kelas strain yang sensitif terhadap serum dan tidak dapat ditipe yang kekurangan rantai samping lipopolisakarida O. Menginfeksi Imun. 1983.
- Hardiani, H., T. Kardiansyah dan S. Sugesty, 2011, Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Dalam Tanah Terkontaminasi Limbah Sludge Industri Kertas Proses Deinking, *Jurnal Selulosa*, 1 (1), Juni
- Hasibuan, Fitri Elizabrth dan Beivy Jonathan Kolondam. 2017. INTERAKSI ANTARA MIKROBIOTA USUS DAN SISTEM KEKEBALAN TUBUH MANUSIA. *Jurnal Ilmiah Sains* . Vol. 17 No. 1, Hal. 36-42
- Hess S, Rambukkana A (Juli 2019). Cossart P, Roy CR, Sansonetti P (eds.). "Biologi Sel Adaptasi Intraseluler Mycobacterium leprae pada Sistem Saraf Tepi". *Spektrum Mikrobiologi*. 7(4): 7.4.13. doi:10.1128/microbiolspec.BAI-0020-2019. PMC 6700727 . PMID31322104.

- J.Vandagitta E.L Varhaagan , K. Engback., P.Rahmar., P.Pist., G.G. Bauck .2011. *Prosedur Laboratorium dasar untuk bakteriologi klinis, EGC*
- Jain, P.K., S. Ramachandran, V. Shukla, D. Bhakuni and S.K. Verna, 2009, Chacacterization of Metal and Antibiotic Resistance in a Bacterial Population Isolated from a Copper Mining Industry, *International Journal of Integrative Biologi*
- Jawetz et.al., 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. Jakarta: EGC.
- Jawetz, E., dkk. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran (EGC).
- Jawetz, E., Menick, and Adelberg, E.A. (1993). *Review of Medical Microbiologi*. Los Altos California: Lange Medical Publication.
- Jawetz, Melnick, & Aldeberg. (2008). *Mikrobiologi Iftdokteran*. *Mikrobiologi Kedokteran*, 23(1), 251–257.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2013, *Medical microbiology, Edisi 23, Mc Graw- Hill companies, United State*
- Jawetz, Melnick, & A. (2013). *Medical Microbiology*. In www.ketabdownload.com (26th ed.). The McGraw Hill Companies. <https://medium.com/@arifwicaksanaa/pengertian-use-case-a7e576e1b6bf>
- Juan-Luis Ramos and Alain Filloux. (2007). *Pseudomonas A Model System In Biology* (A. F. Juan-Luis Ramos (ed.); 1st ed.). Springer. [file:///C:/Users/acer/Downloads/Juan-Luis Ramos, Juan-Luis Ramos, Alain Filloux - Pseudomonas_ Volume 5_ A Model System in Biology-Springer \(2007\).pdf](file:///C:/Users/acer/Downloads/Juan-Luis%20Ramos,%20Alain%20Filloux%20-%20Pseudomonas_Volume%205_A%20Model%20System%20in%20Biology-Springer%20(2007).pdf)
- Kalagarla S, Alluri R, Saka S, Godha V, Undavalli N, Kolalapudi SA (Mei 2022). "Kemanjuran mikroskop fluoresen versus pewarnaan Fite-Faraco yang dimodifikasi pada spesimen biopsi kulit kasus kusta - studi perbandingan". *Jurnal Internasional Dermatologi* . 61 (5): 595–599. doi : [10.1111/ijd.16046](https://doi.org/10.1111/ijd.16046) . PMID 35061916 . S2CID 24616588
- Kementerian Kesehatan 2023 "*Petunjuk Teknis Pemeriksaan Mikroskopis Tuberkulosis*" Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Menular Langsung (P2PM) Jakarta, ISBN 978-623-301-390-1.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Pedoman Teknis Manajemen Terpadu Penegendalian Tuberkulosis Resisten Obat*: Jakarta
- Kementrian Kesehatan. 2017. *Peraturan Menteri Kesehatan nomor 67 tahun 2016*. Jakarta
- Kementrian Kesehatan. 2017. *Petunjuk teknis pemeriksaan TB dengan TCM (Tes Cepat Molekuler)*. Jakarta
- Kusnaldi. 2020. *Mikrobiologi Kesehatan*. Diakses melalui https://http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._BIOLOGI/196805091994031
- Kuswiyanto, 2015, *Bakteriologi 1: Buku Ajar Analis Kesehatan*. Jakarta: EGC
- Kuswiyanto, 2015, *Bakteriologi 2: Buku Ajar Analis Kesehatan*. Jakarta: EGC
- Kuswiyanto, 2015, *Bakteriologi 3: Buku Ajar Analis Kesehatan*. Jakarta: EGC
- Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Bennett, John E. (John Eugene), 1933-, Dolin, Raphael., Blaser, Martin J., (edisi ke-Eighth edition). Philadelphia, PA. ISBN 978-1-4557-4801-3. OCLC 880685433.
- McMurray DN (1996)-"*Mycobacteria dan Nocardia*". Dalam Baron S., dkk. (ed.). *Mikrobiologi Medis Baron(edisi ke-4)*. Cabang Medis Universitas

- Texas. *ISBN 978-0-9631172-1-2. PMID 21413269 . Diarsipkan dari versi asli tanggal 12 Februari 2009 . Diakses tanggal 5 September 2017.*
- Mikrobiologi M.leprae*-. Organisasi Kesehatan Dunia. Diarsipkan dari versi asli tanggal 8 Juni 2013
- Mulyadi, Mudatsir, Nurlina. Hubungan Tingkat Kepositifan Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) dengan Gambaran Luas Lesi Radiologi Toraks pada Penderita Tuberkulosis Paru yang Dirawat Di SMF Pulmonologi RSUDZA Banda Aceh. *J respir indo* vol 31 no 4 Oktober 2011. Available at : <https://arsip.jurnalrespirologi.org/wp-content/uploads/2011/07/jri-jul-2011-133-7.pdf>
- Murray, Patrick R. (2005). *Medical microbiology*. Rosenthal, Ken S., Pfaller, Michael A. (edisi ke-5th ed). Philadelphia: Elsevier Mosby. ISBN 978-0-323-06460-6. OCLC 607171127
- Olivier T, D. Skurnik, B. Picard and E. Denamur, 2010. The Population Genetics of Commensal E. coli. *Nature Reviews Microbiology* 8: 207-217.
- Parish, Tanya; Stoker, Neil G. (1999). "Mycobacteria: Bugs and Bugbears (Two steps forward and one step back)". *Molecular Biotechnology* (dalam bahasa Inggris). **13** (3): 191–200. doi:10.1385/MB:13:3:191. ISSN 1073-6085.
- Pelczar, M.J, dan E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*. Universitas Indonesia Press, Jakarta, 443 hlm. (diterjemahkan oleh Ratna Siri Hadioetomo).
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. *Komplikasi Apa Saja yang Diakibatkan Tuberkulosis*. 2020. Available at : <https://www.klikdpi.com/index.php?mod=article&sel=9492>
- Pollack, Findlay, Mondchein, Modesto. 2014. *Praktikum Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: EGC
- Pollack, Findlay, Mondchein, Modesto. 2014. *Praktikum Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: EGC
- Resejh D. Deshmuk, dkk. 2015. Patient and Provider Qualitative Reported reason for Loss to Follow Up in MDRTB Treatment
- Rouphael, N. G., & Stephens, D. S. (2012). *Neisseria meningitidis: biology, microbiology, and epidemiology*. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 799, 1–20.
- Ruyitno, N. 2008. *Kualitas Teluk Jakarta: Kajian Bakteriologis*. Laporan Pusat Penelitian Oseanografi 10 hlm.
- Sabdono. (2001). *Klasifikasi Bakteri Vibrio parahaemolyticus*. 1998.
- Setiani, Dhien dkk. 2016. *Evaluasi Program Pengendalian Tuberkulosis Multi Drug Resistant (TB MDR) dengan Strategi DOTS di Kabupaten Banyumas: Banyumas*.
- ShinnickTM (2006). "Mycobacterium leprae". Dalam Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E (eds.). *Kaum Prokariota*. Peloncat. hal.934–44. doi : 10.1007/0-387-30743-5_35 . ISBN 978-0-387-25493-7. Diarsipkan dari versi asli tanggal 29 September 2020 . Diakses pada 14 Juli 2019 .

- Soemarno. 2000. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. Akademi Analis Kesehatan Yogyakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia . Yogyakarta
- Sudaryo. 2013. Faktor-faktor yang Berpengaruh Terhadap Kejadian Tuberkulosis Multidrug Resistant (TB-MDR) di RSUP Persahabatan thun 2013.
- Suharyono. 2008. Diare Akut Klinik dan Laboratorik. Rhineka Cipta, Jakarta
- Suparwoto, 2000 *Pedoman Pemeriksaan Mikrobiologi Klinik. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.*
- Suparwoto, 2000 *Pedoman Pemeriksaan Mikrobiologi Klinik. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.*
- Urip, U., & Jiwintarum, Y. (2017). Variasi Suhu Terhadap Pertumbuhan Neisseria Gonorrhoeae Pada *Media Coklat Agar Plate*. *Quality: Jurnal Kesehatan*, 11(2), 74-77.
- Van Ingen, Jakko; Rahim, Zeaur; Mulder, Arnout; Boeree, Martin J.; Simeone, Roxane; Brosch, Roland; van Soolingen, Dick (2012-04). "*Characterization of Mycobacterium orygis as M. tuberculosis Complex Subspecies*". *Emerging Infectious Diseases*. **18** (4): 653–655. doi:10.3201/eid1804.110888. ISSN 1080-6040.
- Anaerobe Systems Inc. 2018. 'Chocolate Agar - CHOC - Anaerobe Systems'.
- Mahon, Connie R., and Donald C. Lehman. 2019. Textbook of Diagnostic Microbiology Sixth Edition. 6th ed. Elsevier Inc
- Himedia. 2024. 'Cystine Tellurite Agar Base'. Retrieved (www.himedialabs.com).
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Surveilans dan Karantina Kesehatan, and Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit. 2017. Pedoman Pencegahan Dan Pengendalian Difteri. DKI Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indionesia .
- Mahon, Connie R., and Donald C. Lehman. 2019. Textbook of Diagnostic Microbiology Sixth Edition. 6th ed. Elsevier Inc.
- Remel. 2008. 'Cystine Tellurite Blood Agar'. Remel Technical Manual For Microbiological Media.

BIODATA PENULIS



Rd. Mustopa lahir di Sengeti, pada 14 Februari 1972. Menyelesaikan pendidikan S1 di Fakultas Kesehatan Masyarakat Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan IBU dan S2 di Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Gajah Mada dan Saat ini penulis merupakan pengajar di D4 dan D3 Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Jambi.

Email : mustopa.rm@gmail.com



Yusianti Silviani, M.Pd lahir di Surakarta, 10 Juli 1987 Jenjang pendidikan penulis meliputi D3 Analis Kesehatan Akademi Analis Kesehatan Nasional, S1 Pendidikan Biologi, S2 Pendidikan Sains Universitas Sebelasa Maret.

Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

Email : yusianti.silviani@stikesnas.ac.id



Seri Rayani Bangun SKp., M.Biomed. lahir di Panribuan, 05 Maret 1976. Menyelesaikan pendidikan tinggi; Pendidikan Sarjana (S-1) pada Program Studi Ilmu Keperawatan di Universitas Diponegoro, Semarang (2002); Pendidikan Magister (S-2) pada Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran di Universitas Sumatera Utara, Medan (2016). Saat ini sedang tercatat sebagai dosen Program studi Teknologi Laboratorium Medik di STIKes Santa Elisabeth Medan. Narahubung melalui email: serirayani2009@gmail.com



Dian Rachma Wijayanti, merupakan dosen pada Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Binawan University. Jakarta Timur. Pada tahun 2007 penulis menyelesaikan pendidikan S1 Biologi di IPB University. Penulis melanjutkan studi S2 Mikrobiologi di King Saud University dan lulus pada tahun 2010. Penulis gemar mengajar, membaca dan menulis. Selain mengajar dan menulis buku penulis juga aktif sebagai dewan redaksi, editor dan reviewer pada beberapa jurnal nasional. Beberapa buku yang sudah diterbitkan oleh penulis antara lain Buku Ajar Biologi Molekuler, Buku Ajar Metode Penelitian, Buku Bakteriologi Untuk Mahasiswa Kesehatan dan Pengantar Bakteriologi.

Email: drwijayanti22@gmail.com



Dita Artanti, S.Si., M.Si lahir di Bojonegoro, 30 September 1989. Jenjang pendidikan penulis meliputi Sarjana (S-1) Biologi Universitas Negeri Surabaya, dan Magister (S-2) Biologi bidang minat Mikrobiologi di Universitas Airlangga.

Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

Email : ditaartanti2505@um-surabaya.ac.id



Dra. Ratih Dewi Dwiyanti M, Kes lahir di Pontianak , 27 maret 1963, Jenjang pendidikan penulis meliputi S1 Biologi UGM , S2 IKD dan Biomedis UGM. Saat ini penulis merupakan pengajar di Program studi D3 dan Sarjana Terapan Jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Banjrmasin
Email : sriyanti270363@gmail.com



Imas Latifah, SKM, M.KKK, lahir di Bandung, 05 Februari 1971. Jenjang pendidikan penulis meliputi D3 Analis Kesehatan, S1 Kesehatan Masyarakat, dan S2 Keselamatan dan Kesehatan Kerja Universitas Indonesia,
Saat ini penulis merupakan pengajar pada Prodi D3 dan D4 Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mohammad Husni Thamrin Jakarta.
Email : imaslatifah72@gmail.com