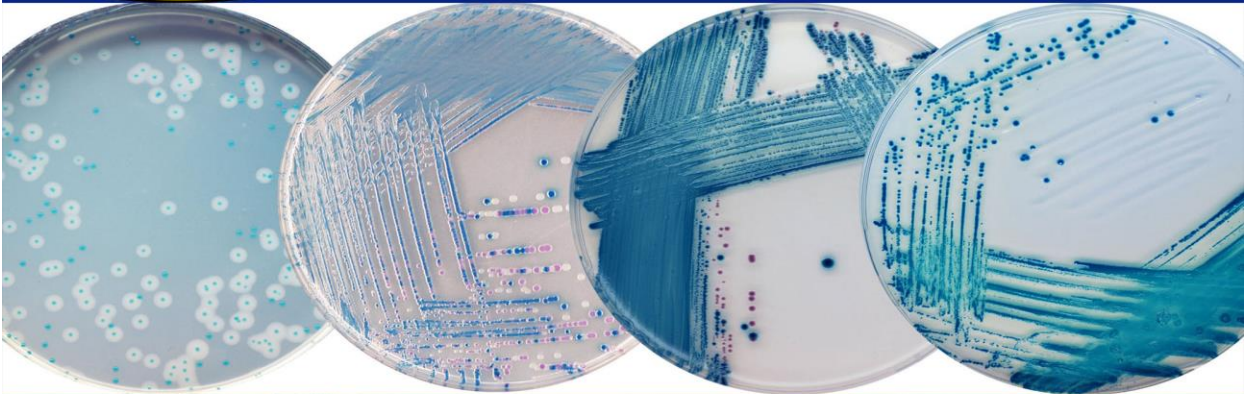




# BUKU PENUNTUN PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI BLOK 15, 16 & 18



Penyusun:

dr. Herman Sunaryo, MS

dr. Wani D. Gunardi, Sp.MK (K)

Dra. Elisabeth D. Harahap, MS

Donna Mesina P, Ssi., M.Biomed

dr. Ade Dharmawan, Sp.MK

dr. Nicolas Layanto, Sp.MK

Departemen Mikrobiologi  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

UKRIDA

2020



# **Buku Penuntun Praktikum Mikrobiologi**

**Blok 15 Skin & Integumen**

**Blok 16 Digestive 2**

**Blok 18 Respirasi 2**

**Penyusun :**

**dr. Herman Sunaryo, MS**

**dr. Wani Devita Gunardi, SpMK (K)**

**Dra. Elisabeth D. Harahap, MS**

**Donna Mesina Pasaribu, Ssi., M.Biomed**

**dr. Ade Dharmawan, SpMK**

**dr. Nicolas Layanto, SpMK**

**DEPARTEMEN MIKROBIOLOGI**

**FKIK UKRIDA**

**JAKARTA**

**2020**

## Daftar Isi

| Materi   | Halaman |
|--|---------|
| Blok 15 (Skin & integument) .....              | 4       |
| a. Familia MICROCOCCACEAE .....                | 6       |
| b. Familia STREPTOCOCCACEA .....               | 12      |
| c. Familia NEISSERIACEAE .....                 | 18      |
| d. Familia BACILLACEAE .....                   | 22      |
| e. <i>Mycobacterium leprae</i> .....           | 25      |
| <br>   |         |
| Blok 16 (Digestive) .....                      | 26      |
| a. Familia ENTEROBACTERIACEAE .....            | 28      |
| b. Familia VIBRIONACEAE .....                  | 37      |
| c. Familia PSEUDOMONADACEAE .....              | 43      |
| d. Kultur Darah Tifoid dan Uji Widal .....     | 45      |
| e. Pemeriksaan air .....                       | 50      |
| <br>   |         |
| Blok 18 (Respirasi) .....                      | 56      |
| a. Familia MYCOBACTERIACEAE .....              | 58      |
| b. Familia CORYNEBACTERIACEAE .....            | 68      |
| c. Pemeriksaan Sputum dan Usap tenggorok ..... | 72      |

## **TATA TERTIB PRAKTIKUM**

1. Memakai baju praktikum (lab jas) minimal setinggi lutut dan harus memakai sepatu, rambut rapi (rambut tidak berjuntai), kuku jari tangan pendek dan tidak menggunakan cat kuku.
2. Membawa pensil warna (minimal 12 warna)
3. Membawa buku Penuntun Praktikum Mikrobiologi
4. Dilarang membawa makanan/minumna/rokok ke dalam ruang lab.
5. Perhatikan nomor mikroskop yang digunakan masing-masing dan teliti kelengkapan mikroskop tersebut sebelum dipakai.
6. Seluruh bahan dan alat praktikum yang disediakan menjadi **tanggung jawab kelompok** masing-masing.
7. Menggunakan minyak emersi (cukup satu tetes) untuk pembesaran 100 x
8. Lampu spiritus ditutup kembali bila tidak/selesai dipakai.
9. Bila biakan kuman tumpah atau pecah, segera lapor Dosen pembimbing dan bersihkan dengan lisol.
10. Setelah selesai praktikum, setiap kelompok diwajibkan untuk :
  - a. membersihkan kertas/kapas/korek api/ gelas alas/ kaca penutup gelas alas/ pipet/ pinset bekas pakai dan masukkan ke dalam mangkok berisi lisol yang telah disediakan.
  - b. membersihkan lensa obyektif 100 x dengan kapas + xylol dan matikan lampu mikroskop.
  - c. menyerahkan buku praktikum (hasil pengamatan) kepada dosen untuk ditandatangani.
  - d. membuang sampah pada tempatnya
  - e. mencuci tangan dengan sabun sebelum meninggalkan ruang laboratorium

BUKU PENUNTUN PRAKTIKUM KBK SEMESTER IV  
BLOK 15, 16 & 18

1. Blok 15 (Skin & Integument)
  - a. Familia MICROCOCCACEA
  - b. Familia STREPTOCOCCACEA
  - c. Familia NEISSERIACEA
  - d. Familia BACILLACEAE (Genus: Bacillus)
  - e. Familia MYCOBACTERIACEAE (Mycobacterium leprae)
  
2. Blok 16 (Digestive 2)
  - a. Familia ENTEROBACTERIACEAE
  - b. Familia VIBRIONACEAE
  - c. Familia PSEUDOMONADACEAE
  - d. Pemeriksaan Faeces (kultur)
  - e. Pemeriksaan Darah : Kultur dan Uji serologi ( WIDAL & TUBEX)
  - f. Pemeriksaan Air
  
3. Blok 18 (Respirasi)
  - a. Familia MYCOBACTERIUM (Mycobacterium tuberculosis)
  - b. Familia CORYNEBACTERIUM
  - c. Haemophilus influenzae
  - d. Pemeriksaan usap tenggorok

## Mikrobiologi Kedokteran

### Blok 15 (Skin & Integument)

Praktikum 1 Topik: a. Familia MICROCOCCACEAE  
b. Familia STREPTOCOCCACEAE

Praktikum 2 Topik: a. Familia NEISSERIACEAE  
b. Familia BACILLACEAE (Genus. Bacillus)  
c. Mycobacterium leprae

Pengampu: Herman Sunarya, Dr. MS,  
Elisabeth Harahap, Dra, MS,  
Donna Mesina R.Pasaribu, S.Si., M.Biomed  
Wani D. Gunardi, Dr. Sp.MK (K)  
Ade Dharmawan, dr., Sp.MK  
Nicolas Layanto, dr., SpMK

Waktu: 100 menit x 2 tatap muka

#### Sasaran Belajar:

1. Memahami sifat-sifat genus Staphylococcus
2. Memahami cara isolasi dan identifikasi Staphylococcus
3. Memahami sifat-sifat Streptococcus
4. Memahami cara isolasi dan identifikasi Streptococcus
5. Memahami cara penentuan grup Streptococcus
6. Memahami sifat-sifat genus Neisseria
7. Memahami cara isolasi dan identifikasi genus Neisseria
8. Memahami sifat-sifat genus Bacillus
9. Memahami cara isolasi dan identifikasi Bacillus
10. Memahami cara pembuatan preparat tahan asam M. leprae

#### Buku Wajib:

1. Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2016. Medical Microbiology. 27<sup>th</sup>ed. Mc Graw Hill Lange. New York.
2. Patrick Murray, *et al* . 2016. Medical Microbiology. 8<sup>th</sup> ed. Port Mosby, USA.

#### Referensi:

1. Mahon, *et al*. 2014. Textbook of Diagnostic Microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Wb. Saunders Company Philadelphia.
2. Bailey & Scott's, *et al*. 2016. Diagnostic Microbiology. 14<sup>th</sup> ed. Mosby, Inc. St. Louis, Missouri.

**Ringkasan:**

Staphylococcus adalah bakteri positif Gram berbentuk bulat berkelompok tersusun seperti anggur, dan katalase positif. Ada yang patogen dan non patogen, yang patogen umumnya berpigmen dan menghasilkan enzim koagulasi.

Streptococcus adalah bakteri positif Gram, berbentuk bulat, tersusun seperti rantai atau berpasangan dan katalase negatif.

Berdasarkan sifat hemolisis pada agar darah dibagi atas 3 golongan:

- Streptococcus tipe alfa (Streptococcus viridans)
- Streptococcus tipe beta (Streptococcus hemolyticus)
- Streptococcus tipe gamma (Streptococcus anhemolyticus).

Identifikasi Streptococcus didasarkan pada pemeriksaan koloni, mikroskopik dan serologi dengan antiserum spesifik.

Neisseria adalah bakteri negatif Gram berbentuk diplokokus tersusun seperti ginjal.

Menghasilkan enzim oksidase, umumnya bersifat mikroaerofilik, membutuhkan CO<sub>2</sub> 5% untuk pertumbuhannya. Identifikasi dilakukan dengan uji biokimia pada medium CTA (Cystin Trypticase Agar). Neisseria gonorrhoeae ada yang menghasilkan enzim beta laktamasa.

Familia Bacillaceae adalah bakteri positif Gram, berbentuk batang dan berspora. Genus Bacillus kebanyakan bersifat non patogen. Genus yang patogen adalah Bacillus anthracis, Bacillus cereus. Identifikasi dilakukan dengan melihat sifat koloni, mikroskopik, uji biokimia..

Mycobacterium leprae adalah batang tahan asam (1% asam alkohol), secara mikroskopik terlihat berkelompok membentuk globus.

**Self-assesment:**

1. Jelaskan sifat Staphylococcus
2. Jelaskan cara isolasi dan identifikasi Stafilokokus
3. Jelaskan sifat-sifat Streptococcus
4. Jelaskan cara isolasi dan identifikasi Streptococcus
5. Jelaskan sifat-sifat Neisseria
6. Jelaskan cara isolasi dan identifikasi Neisseria
7. Jelaskan cara pemeriksaan N. Gonorrhoeae penghasil enzim beta-laktamasa
8. Jelaskan sifat-sifat Bacillus
9. Jelaskan cara isolasi dan identifikasi Bacillus.
10. Jelaskan cara pemeriksaan mikroskopik Mycobacterium leprae

## Familia MICROCOCCACEAE

### *Genus : Staphylococcus*

Berbentuk bulat bergerombol, positif Gram, mempunyai enzim katalase.

*Staphylococcus aureus* merupakan spesies yang patogen, menyebabkan penyakit pada manusia.

*Staphylococcus epidermidis* merupakan flora normal di tubuh manusia.

Pembagian golongan didasarkan atas:

- ada/tidaknya pigmen
- sifat hemolisa
- adanya enzim koagulasa
- peragian gula manitol
- aktivitas DNA-asa

Pembentukan pigmen :

- *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen kuning emas
- *Staphylococcus citreus* membentuk pigmen kuning
- *Staphylococcus albus* tidak perpigmen

Sifat hemolisa pada lempeng agar darah atau kaldu darah.

- *Staphylococcus aureus*, hemolisa sempurna
- *Staphylococcus epidermidis*, tidak hemolisa

Peragian gula manitol pada tabung pepton gula atau MSA (*Mannitol Salt Agar*).

- *Staphylococcus aureus*, meragi gula manitol
- *Staphylococcus epidermidis*, tidak meragi gula manitol

Produksi enzim koagulasa pada perbenihan plasma.

- *Staphylococcus aureus*, menghasilkan enzim koagulasa
- *Staphylococcus epidermidis*, tidak menghasilkan enzim koagulasa

Aktivitas enzim DNA-asa pada perbenihan yang mengandung DNA.

- *Staphylococcus aureus*, menghasilkan enzim DNA-asa
- *Staphylococcus epidermidis*, tidak menghasilkan enzim DNA-asa

### Identifikasi spesies *Staphylococcus*

| Tes               | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
|-------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| Hemolisa          | +                            | -                                 |
| Manitol           | +                            | -                                 |
| Koagulasa         | +                            | -                                 |
| Aktivitas DNA-asa | +                            | -                                 |



### **Cara melakukan tes koagulasi :**

- Cara gelas alas (slide method) :
  1. Teteskan satu tetes plasma sitrat/oxalat kelinci pada gelas alas
  2. Ambil biakan bakteri yang akan diperiksa dan campur.
  3. Bila positif terjadi gumpalan plasma (plasma clumping)
  
- Cara tabung (tube method)
  1. Masukkan ke dalam tabung 0,5 ml plasma sitrat (oksalat) kelinci.
  2. Tambahkan satu sengkeli biakan bakteri yang akan diperiksa
  3. Inkubasi pada 37 C, 3 – 6 jam
  4. Periksa selama 0,5, 1, 2, 3 dan 6 jam apakah ada/tidak pembekuan plasma
  5. Setelah ada pembekuan (koagulasi positif), inkubasi lagi dan periksa apakah mencair kembali (fibrinolisin positif).

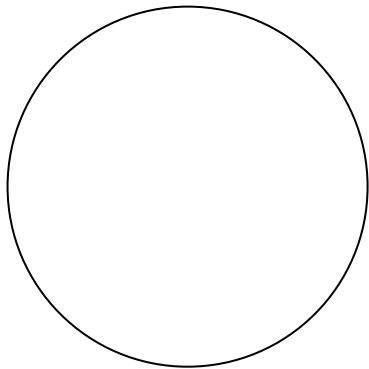
### **Cara melakukan tes DNA-asa (*Deoxyribonuclease*) :**

1. Teteskan biakan *Staphylococcus* dalam kaldu berumur 24 jam, pada perbenihan yang mengandung DNA (*Deoxyribonucleic acid*)
2. Inkubasi 37 C, selama 24 jam
3. Tuangkan HCl 1 N hingga menutupi permukaan perbenihan.
4. *Staphylococcus aureus* akan menunjukkan adanya zona jernih (aktivitas DNA-asa).

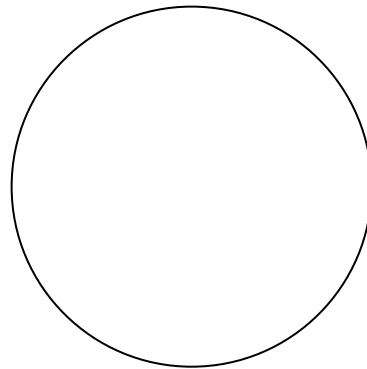
### **Pertunjukkan :**

1. Biakan *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus citreus* pada agar miring.
2. Tes koagulasi positif dan negatif (cara tabung)
3. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* pada lempeng agar darah
4. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* pada kaldu darah
5. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* pada MSA
6. Tes Manitol pada tabung positif dan negatif
7. Tes Katalase
8. Preparat Gram *Staphylococcus* dari biakan
9. Preparat Gram *Staphylococcus* dari spesimen
10. Tes MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*)

**Pewarnaan Gram Staphylococcus**

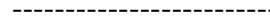
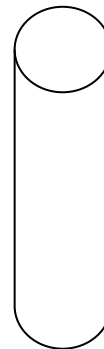
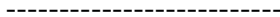
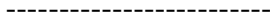


Preparat Gram dari biakan

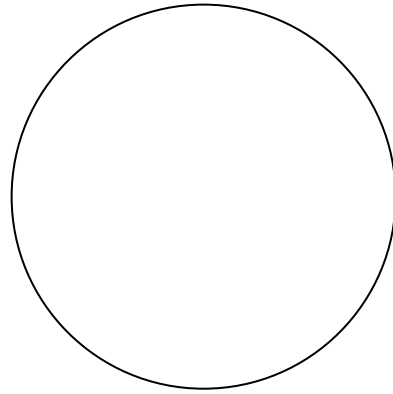
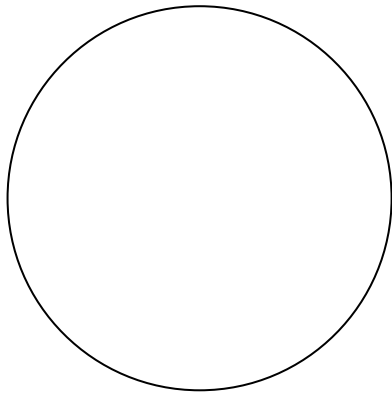


Preparat Gram dari pus

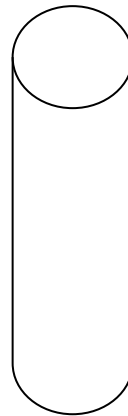
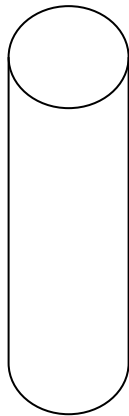
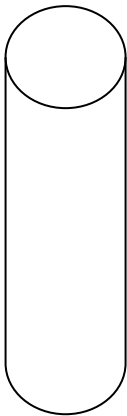
**Biakan Staphylococcus pada agar miring**



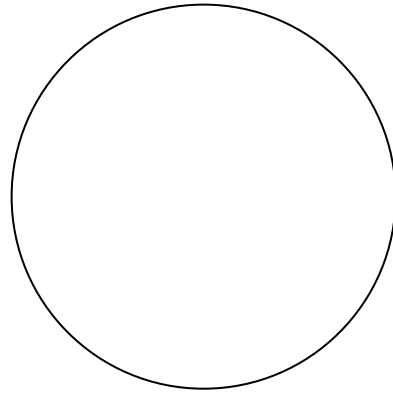
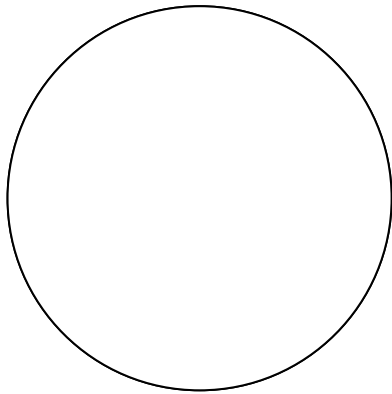
**Biakan Staphylococcus pada lempeng agar darah**



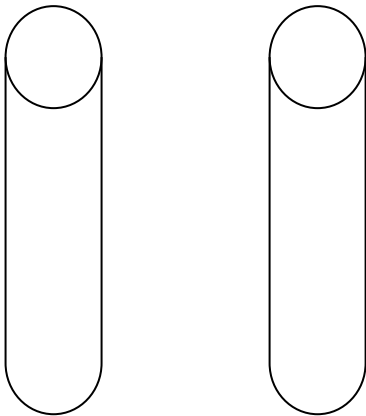
**Biakan Staphylococcus pada kaldu darah**



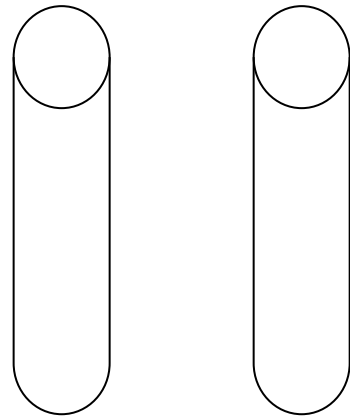
**Biakan Staphylococcus pada lempeng MSA (*Manitol Salt Agar*)**



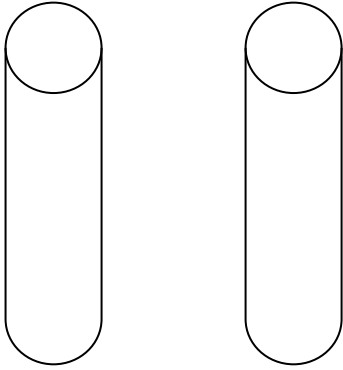
**Tes Manitol pada tabung**



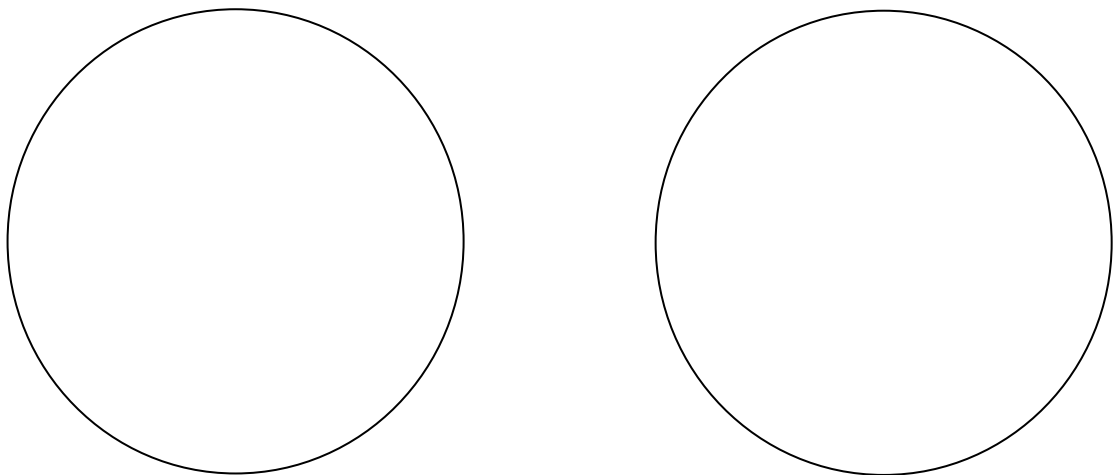
**Tes Koagulasi**



**Tes Katalasa**



**TES MRSA**  
*(Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus)*



## Familia : STREPTOCOCCACEA

### Genus Streptococcus

Berbentuk bulat dan tersusun seperti rantai, berpasangan, positif Gram, tidak mempunyai enzim katalase, tidak berpigmen. Koloni pada agar darah kecil/halus. Berdasarkan tipe hemolisa pada agar darah dibagi 3 golongan:

- hemolisa tipe alfa (*Streptococcus α hemolyticus*)
- hemolisa tipe beta (*Streptococcus β hemolyticus*)
- hemolisa tipe gamma (*Streptococcus anhemolyticus*)

Hemolisa tipe alfa disebut juga hemodigesti, menunjukkan zona kehijauan disekitar koloni bakteri.  
Contoh : *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pneumoniae*

Hemolisa tipe beta atau hemolisa sempurna, menunjukkan zona jernih/transparan sekitar koloni bakteri.

Contoh: *Streptococcus pyogenes*

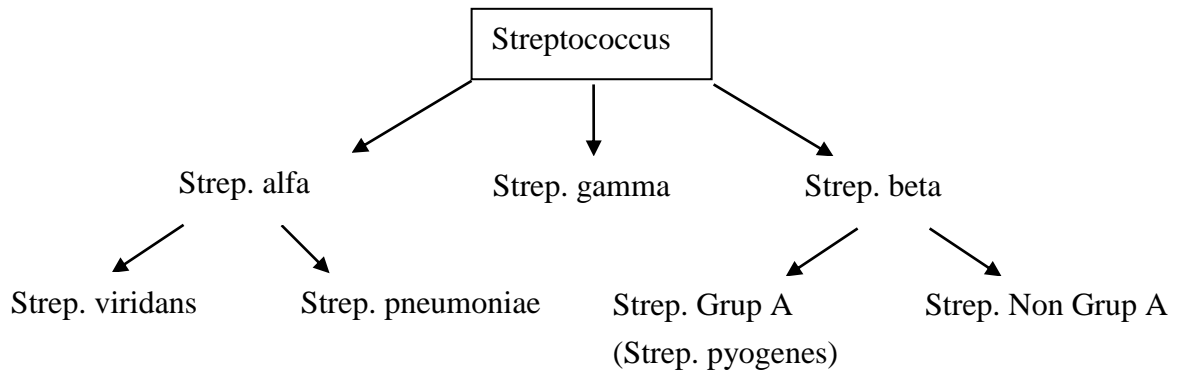
Hemolisa tipe gamma atau anhemolitik, tidak ada zona sekitar koloni.

Contoh : *Enterococcus faecalis*

### Klassifikasi Streptococcus patogen

| Klassifikasi biokimia     | Klassifikasi serologi | Tipe hemolisa           |
|---------------------------|-----------------------|-------------------------|
| <i>S. pyogenes</i>        | A                     | β                       |
| <i>S. agalactiae</i>      | B                     | β; non hemolitik        |
| <i>S. disgalactiae</i>    | C, G                  | β                       |
| <i>S. anginosus group</i> | A, C, F, G, non group | β; α atau non hemolitik |
| <i>S. bovis</i>           | D                     | α; non hemolitik; β     |
| <i>Viridans group</i>     | Non group             | α atau non hemolitik    |
| <i>S. pneumoniae</i>      | Non group             | α                       |

**Identifikasi :**



**Beda *Streptococcus viridans* dan *S. pneumoniae***

| Jenis Tes                                     | <i>Streptococcus viridans</i> | <i>Streptococcus pneumoniae</i> |
|---|-------------------------------|---------------------------------|
| 1. Tes Inulin                                 | Negatif                       | Positif                         |
| 2. Tes lisis empedu<br>(Bile solubility test) | Tidak lisis                   | Lisis                           |
| 3. Tes cakram Optokhin                        | Resisten                      | Sensitif                        |
| 4. Tes Quellung<br>(pengembangan simpai)      | Negatif                       | Positif                         |

**Cara melakukan reaksi Quellung :**

1. Teteskan 1 tetes NaCl faal pada gelas alas, kemudian buatlah suspensi bakteri yang akan diperiksa.
2. Tambahkan satu tetes serum anti spesifik (antibodi terhadap kapsul polisakarida *Streptococcus pneumoniae*).
3. Teteskan zat warna biru metilen, tutup dengan gelas penutup, periksa di bawah mikroskop.
4. Reaksi positif menunjukkan adanya pengembangan simpai.

### Beda Streptococcus $\beta$ Grup A dan Non Grup A :

| Jenis Tes                             | Streptococcus grup A<br>( <i>Streptococcus pyogenes</i> ) | Streptococcus non grupA |
|---------------------------------------|---|-------------------------|
| 1. Tes cakram Basitrasin              | Sensitif  | Resisten                |
| 2. Tes Fibrinolisin/<br>Streptokinase | Positif   | Negatif                 |

### Cara melakukan tes Fibrinolisin (Streptokinasa)

1. Masukkan sebanyak 0,2 ml plasma ke dalam tabung
2. Tambahkan 0,5 ml NaCl faal
3. Tambahkan biakan Streptococcus dalam kaldu yang berumur 24 jam
4. Aduk, kemudian masukkan 0,25 ml larutan CaCl<sub>2</sub> 0,25%.
5. Kocok, inkubasi pada suhu 37 °C di dalam penangas air, kemudian diperiksa saat mulai terjadi pembekuan dan saat mulai mencair lagi.

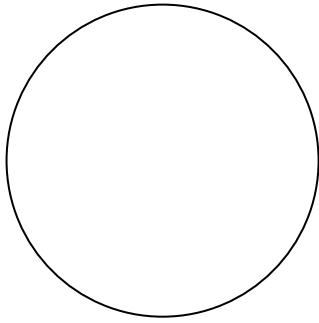
Untuk identifikasi Streptococcus grup dapat juga dilakukan dengan reaksi serologi dengan antiserum spesifik (*Streptococcal Group kit*).

Pertunjukkan :

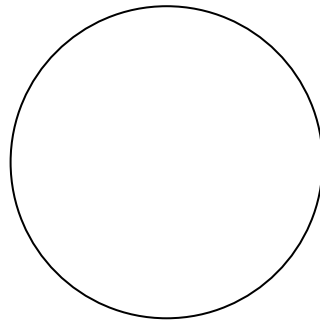
1. Biakan Streptococcus tipe alfa, beta dan gamma pada :
  - a. Lempeng agar darah
  - b. Kaldu darah
2. Tes Fibrinolisin
3. Tes cakram Basitrasin
4. Tes Inulin
5. Tes lisis empedu
6. Tes cakram Optokhin
7. Pewarnaan Gram *Streptococcus pyogenes*
8. Pewarnaan Gram *Streptococcus pneumoniae*
9. Pewarnaan Gins-Burri *Streptococcus pneumoniae*



**Pewarnaan Gram**

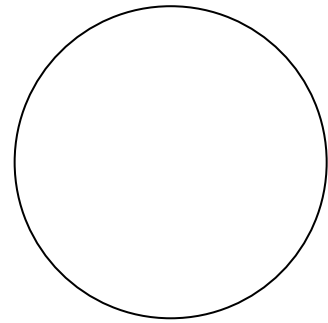


*S. pyogenes*



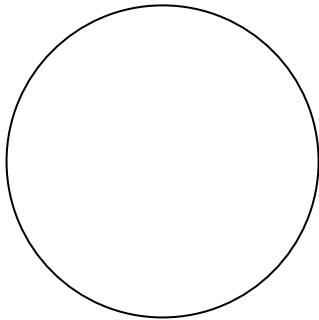
*S. pneumoniae*

**Pewarnaan Gins-Burri**



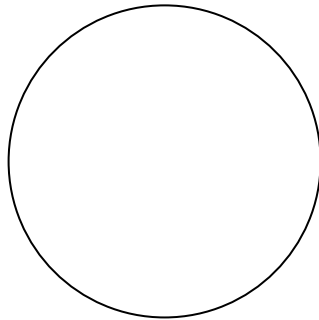
*S. pneumoniae*

**Biakan Streptococcus pada lempeng agar darah**



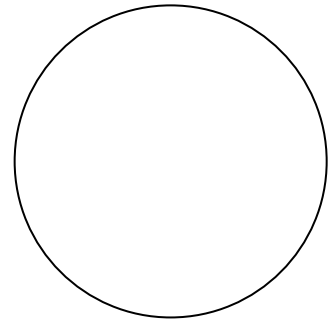
.....

Hemolisis alfa  
(hemodigesti)



.....

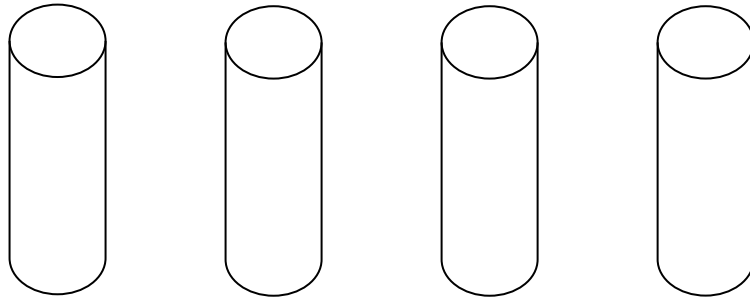
Hemolisis beta  
(hemolisa sempurna)



.....

Hemolisis gamma  
(tidak ada hemolisa)

**Biakan Streptococcus pada kaldu darah**



A

B

C

D

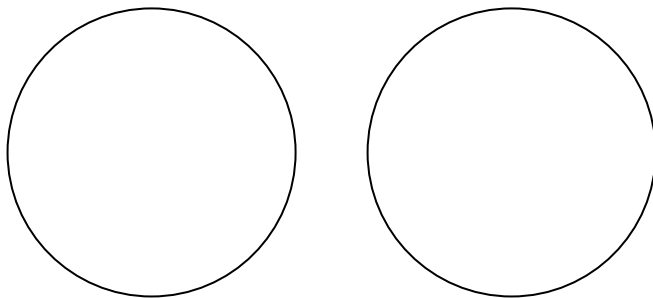
Keterangan :

- A .....
- B .....
- C .....
- D .....

**Beda Streptococcus Grup A (*S. pyogenes*) dengan Non Grup A :**

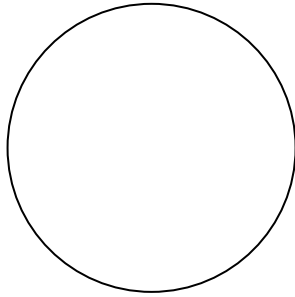
**1. Tes cakram Basitrasin**

**2. Tes Fibrinolisin/Streptokinasa**

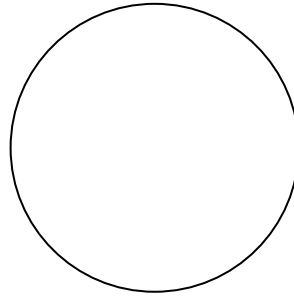


**Beda *Streptococcus viridans* dan *Streptococcus pneumoniae* :**

**1. Tes cakram optokhin**

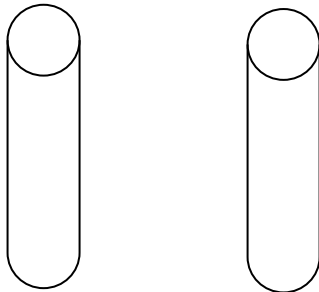


.....  
.....

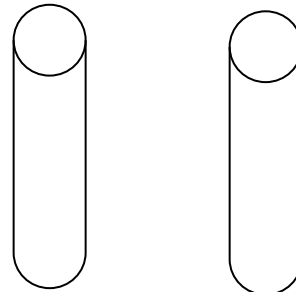


.....  
.....

**2. Tes lisis empedu**



**3. Tes Inulin**



## Familia : NEISSERIACEAE

### Genus: Neisseria

Diplokokus negative Gram, berpasangan dua-dua menyerupai ginjal atau biji kopi, oksidasa positif, tidak bergerak.

Neisseria yang tidak patogen dapat tumbuh pada agar nutrient, pada 35-37° C tanpa CO<sub>2</sub>.

*Neisseria gonorrhoeae* dan *Neisseria meningitidis* merupakan mikroorganisme yang "fastidious", memerlukan agar coklat dan CO<sub>2</sub> 5-10% untuk pertumbuhannya.

*Neisseria meningitidis* (Meningokokus) terdapat di nasofaring orang sehat, dan di cairan ssum tulang belakang penderita meningitis.

*Neisseria gonorrhoeae* (Gonokokus) terdapat pada traktus urogenitalis terutama pada uretra, penyebab penyakit hubungan seksual.

### Genus: Moraxella

Dahulu disebut *Branhamella catarrhalis* atau *Neisseria catarrhalis*. Terdapat pada traktus respiratorius orang sehat.

Diplokokus negative Gram, tumbuh pada perbenihan agar darah suasana aerob, tidak meragi karbohidrat

### Isolasi dan identifikasi Neisseria :

1. Mikroskopik, terlihat bentuk diplokokus negatif Gram seperti ginjal atau biji kopi. Meningokokus dan Gonokokus terdapat intraseluler pada sediaan yang berasal dari spesimen penderita infeksi akut.
2. Memerlukan perbenihan agar coklat yang diperkaya untuk pertumbuhan *Neisseria meningitidis*, agar coklat selektif (Thayer-Martin) untuk isolasi *Neisseria gonorrhoeae*. Inkubasi pada 35-37° C dengan suasana CO<sub>2</sub> 5-10%.
3. Tes oksidasa positif dengan reagen larutan tetrametil-p-fenilendiamin hidroklorida 1%, koloni menjadi hitam.
4. Sifat biokimia pada gula-gula dalam perbenihan CTA (Cystine Trypticase Agar). *Neisseria gonorrhoeae* hanya meragikan glukosa, *Neisseria meningitidis* meragikan glukosa dan maltosa.
5. Tes Iodometri/ Tes Cefinase untuk *Neisseria gonorrhoeae* penghasil enzim beta-laktamasa.

### Cara melakukan tes beta-laktamasa

#### A. Tes Iodometri:

1. Buat suspensi bakteri yang pekat dalam 1 ml larutan penisilin 6000ug/ml. Inkubasi 30 menit pada suhu kamar.
2. Tambahkan larutan kanji (amilum) 1%.
3. Kemudian tambahkan 1 tetes larutan Iodium, seketika terlihat larutan menjadi biru.
4. Kocok, bila warna biru hilang segera berarti tes beta-laktamasa positif, bila warna biru tidak berubah berarti tes beta laktamasa negatif.

**B. Tes Cefinase** (telah tersedia secara komersial) :

Untuk deteksi enzim beta-laktamase sekarang telah tersedia suatu cakram sefinase yang merupakan substrat sefalosporin-kromogenik. Koloni bakteri diletakkan pada cakram, bila terbentuk warna merah muda menunjukkan adanya enzim beta-laktamase, warna merah muda tidak terbentuk enzim beta-laktamase negatif.

**Tes Oksidasa:**

Koloni bakteri diletakkan pada kertas yang mengandung reagen untuk enzim oksidasa, warna koloni menjadi hitam tes oksidasa positif. Koloni tidak berubah warna, tes Oksidasa negatif.

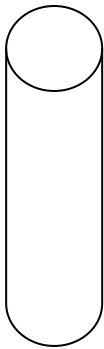
Tugas : Melakukan pewarnaan Gram *Moraxella catarrhalis*.

Bahan : 1. Biakan *Moraxella catarrhalis* pada tabung agar darah  
2. Na Cl faal  
3. Zat warna Gram

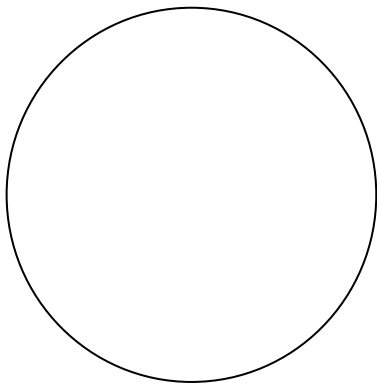
**Pertunjukkan :**

1. Perbenihan transport "Charcoal" untuk *Neisseria gonorrhoeae*
2. Lempeng agar coklat "Thayer-Martin" steril
3. Biakan *Neisseria gonorrhoeae* pada agar coklat "Thayer-Martin"
4. Tes oksidasa
5. Uji biokimia *Neisseria* pada gula-gula CTA ( Cystine Trypticase Agar)
6. Pewarnaan Gram *Neisseria gonorrhoeae*
7. Tes Iodometri/Tes Cefinase.

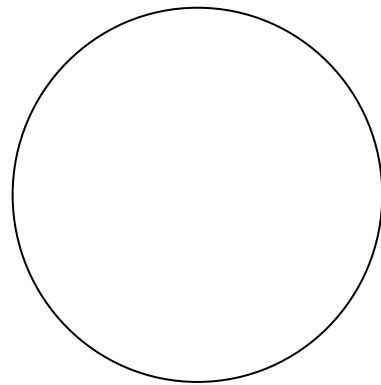
**1. Perbenihan transport "Charcoal"**



**2. Perbenihan Thayer-Martin**

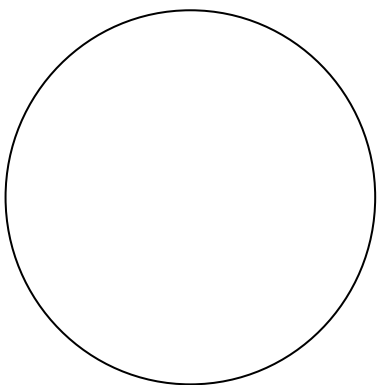


**3. Biakan *Neisseria gonorrhoeae* pada Thayer-Martin**

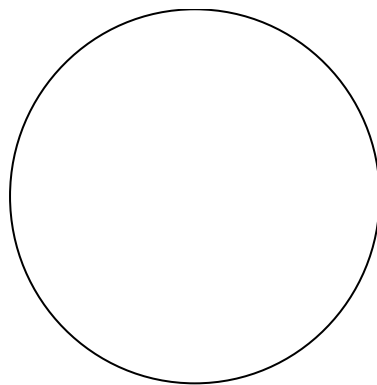


**4. Pewarnaan Gram *Neisseria gonorrhoeae***

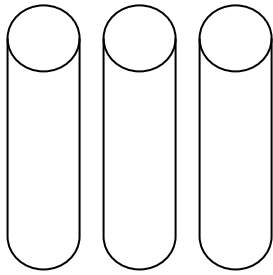
Preparat dari biakan



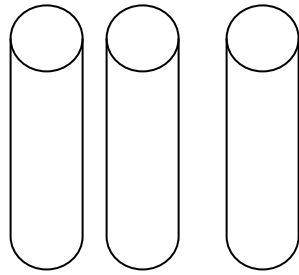
Preparat dari spesimen



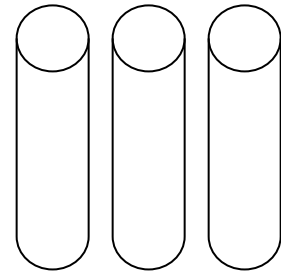
**4. Uji biokimia Neisseria pada CTA (*Cystine Trypticase Agar*)**



*Neisseria gonorrhoeae*



*Neisseria meningitidis*

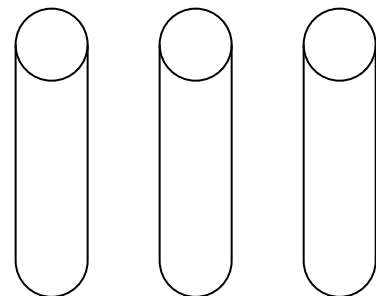


*Moraxella catarrhalis*

|                               | Glukosa | Maltosa | Sakharosa |
|-------------------------------|---------|---------|-----------|
| <i>Neisseria gonorrhoeaea</i> |         |         |           |
| <i>Neisseria meningitidis</i> |         |         |           |
| <i>Moraxella catarrhalis</i>  |         |         |           |

**Tes Oksidasa**

**Tes Iodometri**



## Familia BACILLACEAE

Familia Bacillaceae berbentuk batang positif Gram berspora, dibagi atas 2 genus: Genus Bacillus (aerob) dan Genus Clostridium (anaerob)

### Genus Bacillus

Batang positif Gram, pembentuk spora, bersifat aerob.

Spesies:

*Bacillus anthracis* : tidak bergerak, spora bulat, badan bakteri tidak membengkak pada tempat spora, tersusun seperti rantai ("bamboo formation"). Koloni pada lempeng agar: putih keruh, kasar, pinggiran tidak rata.

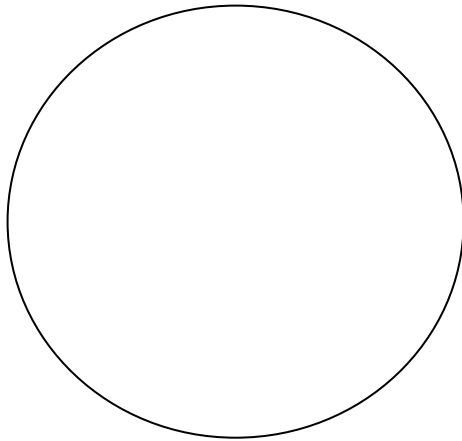
*Bacillus subtilis* : bergerak, badan bakteri tidak membengkak pada tempat spora, tidak patogen. Koloni pada lempeng agar: putih keruh, pinggiran tidak rata.

*Bacillus mycoides* : bergerak, badan bakteri membengkak pada tempat spora, tersusun seperti rantai, tidak patogen. Koloni pada lempeng agar: membentuk sulaman/anyaman.

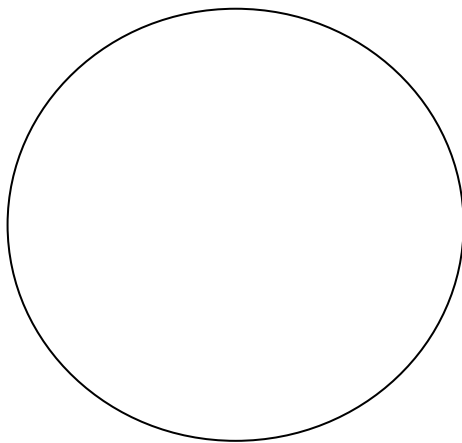
*Bacillus cereus* : bergerak, spora terminal/subterminal. Koloni pada lempeng agar darah hijau kekuningan.



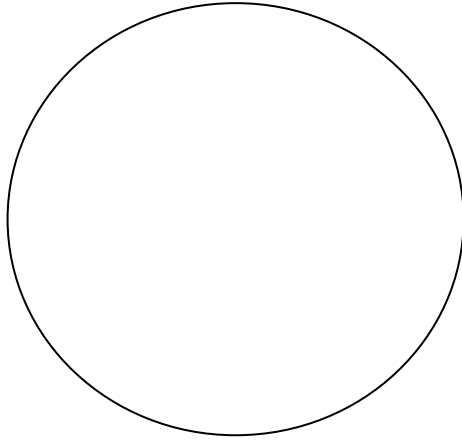
1. Biakan *Bacillus anthracis* pada lempeng agar darah



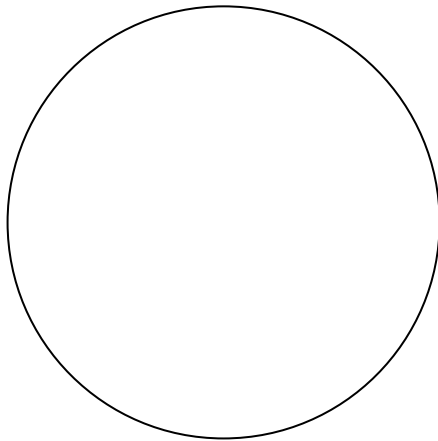
2. Biakan *Bacillus subtilis* pada lempeng agar



3. Biakan *Bacillus mycoides* pada lempeng agar



4. Biakan *Bacillus cereus* pada lempeng agar darah



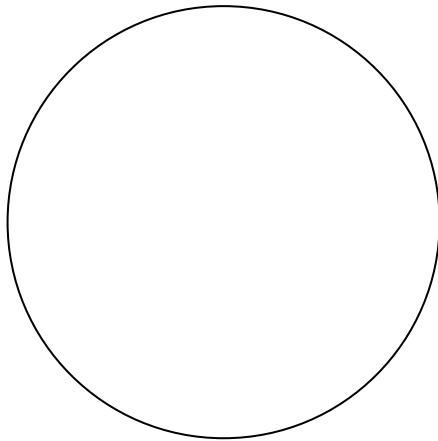
## **Mycobacterium leprae**

Digolongkan ke dalam famili Mycobacteriaceae, penyebab penyakit lepra (Morbus Hansen). Belum dapat dibiakkan pada medium buatan maupun biakan sel, dapat ditumbuhkan pada tikus (*mouse footpad*) dan armadillo. Tumbuh sangat lambat, generation time 14 hari, temperatur optimal 30° C. Tumbuh pada bagian kulit, mukosa hidung, nervus superficial dan cuping telinga.

Identifikasi *Mycobacterium leprae*:

Untuk diagnosa pasti ditemukan basil tahan asam (BTA) pada kerokan kulit, sekret hidung, kerokan mukosa hidung.

Pewarnaan tahan asam Ziehl-Neelsen dari kerokan kulit:



**Mycobacterium leprae**

## Mikrobiologi Kedokteran

### Blok 16 (Digestive)

Praktikum 3 Topik: a. Familia ENTEROBACTERIACEAE  
b. Pemeriksaan feses

Praktikum 4 Topik: a. Familia VIBRIONACEAE  
b. Familia PSEUDOMONADACEAE

Praktikum 5 Topik: a. Pemeriksaan Darah (kultur dan serologi)  
b. Pemeriksaan air

Pengampu: Herman Sunarya, Dr. MS,  
Elisabeth Harahap, Dra, MS,  
Donna Mesina R.Pasaribu, S.Si., M.Biomed  
Wani D. Gunardi, Dr. Sp.MK  
Ade Dharmawan, dr., Sp.MK  
Nicolas Layanto, dr., Sp.MK

Waktu: 100 menit x 3 tatap muka

### Sasaran Belajar :

1. Memahami sifat-sifat bakteri enterik
2. Memahami bakteri enterik peragi laktosa dan bukan peragi laktosa
3. Memahami sifat bakteri enterik patogen dan non patogen
4. Memahami cara isolasi bakteri enterik patogen dari spesimen tinja
5. Memahami cara identifikasi bakteri enterik dengan uji biokimia
6. Memahami cara identifikasi bakteri enterik dengan uji serologi
7. Memahami cara pemeriksaan air secara bakteriologik
8. Memahami cara penentuan MPN dan TPC.

### Buku Wajib:

1. Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2016. Medical Microbiology. 27<sup>th</sup>ed. Mc Graw Hill Lange. New York.
2. Patrick Murray, *et al* . 2016. Medical Microbiology. 8<sup>th</sup> ed. Port Mosby, USA.

### Referensi:

1. Mahon, *et al*. 2014. Textbook of Diagnostic Microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Wb. Saunders Company Philadelphia.
2. Bailey & Scott's, *et al*. 2016. Diagnostic Microbiology. 14<sup>th</sup> ed. Mosby, Inc. St. Louis, Missouri.
3. PERMENKES No 32 Tahun 2017
4. PERMENKES No 492 Tahun 2010

**Ringkasan :**

Enterobacteriaceae adalah bakteri enterik berbentuk batang negatif Gram, tidak mempunyai enzim oksidase, terdiri dari peragi laktosa dan tidak peragi laktosa. Peragi laktosa umumnya merupakan flora normal di usus, sedangkan yang tidak peragi laktosa umumnya patogen di usus. Isolasi bakteri dari tinja memerlukan perbenihan diferensial, selektif dan persemaian. Identifikasi dilakukan dengan uji biokimia dan serologi.

Vibrionaceae adalah bakteri berbentuk batang bengkok (koma) negatif Gram. Untuk isolasi *Vibrio cholerae/eltor* digunakan perbenihan eksklusif (pH alkalis), identifikasi dilakukan dengan antiserum polivalen O1.

*Pseudomonas* adalah batang negatif Gram, gerak positif, berpigmen hijau/biru yang larut dalam air, tidak meragi karbohidrat, oksidase positif.

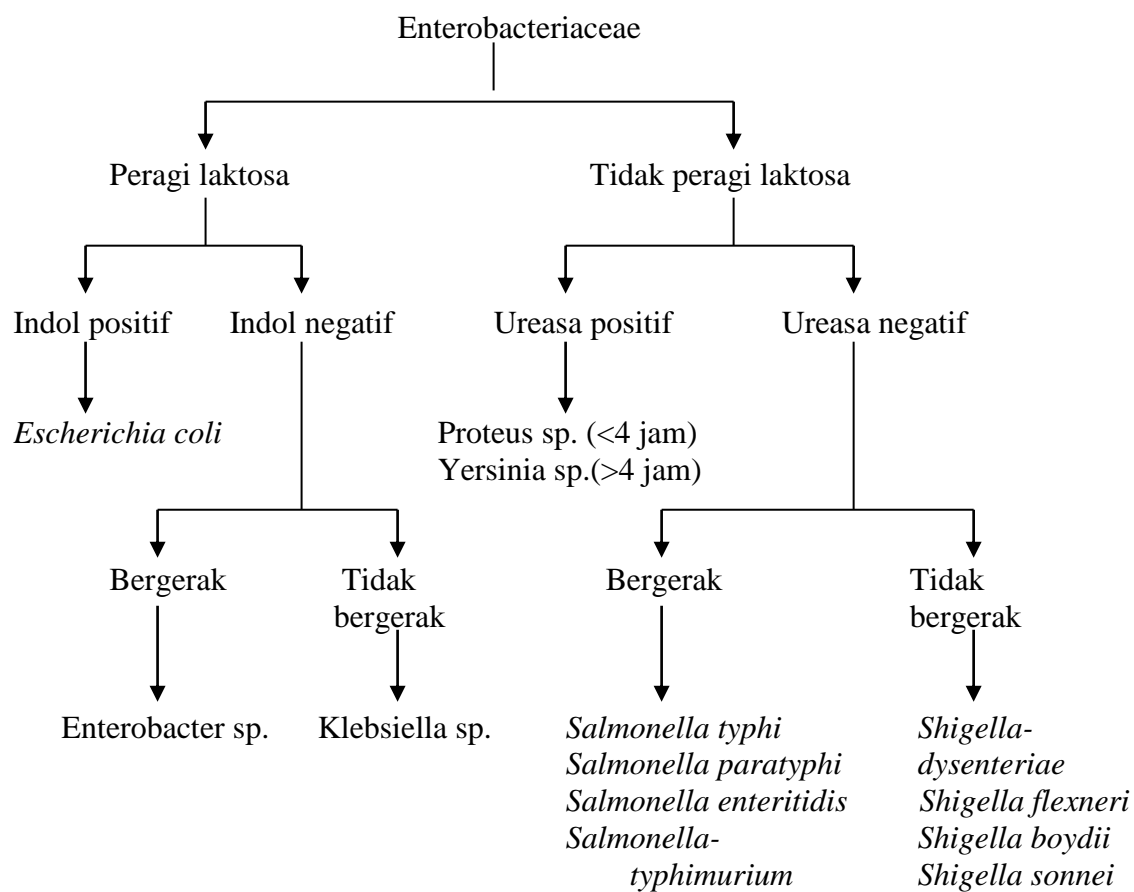
Pada pemeriksaan air secara bakteriologik digunakan *Escherichia coli* sebagai indikator tercemarnya air oleh tinja. Untuk mengetahui jumlah *E.coli* dilakukan metode MPN (= *Most Probable Number*) yang terdiri dari 3 tahap yaitu:

- *Presumptive test* (uji perkiraan)
- *Confirmed test* (uji penegasan)
- *Completed test* (uji lengkap)

**Self-assesment:**

1. Jelaskan sifat-sifat bakteri enterik
2. Jelaskan cara membedakan bakteri peragi laktosa dan tidak peragi laktosa
3. Jelaskan cara isolasi bakteri enterik patogen dari spesimen tinja
4. Jelaskan cara identifikasi bakteri enterik dengan uji biokimia
5. Jelaskan cara identifikasi bakteri enterik dengan uji serologi
6. Jelaskan cara pemeriksaan serologi untuk diagnosa demam tifoid
7. Jelaskan pemeriksaan air secara bakteriologik
8. Jelaskan cara penentuan MPN

## Familia ENTEROBACTERIACEAE



### **Genus *Escherichia* dan *Enterobacter***

Batang negatif Gram, tidak berspora, meragi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas, gerak positif. Perbedaan *Escherichia* dengan *Enterobacter* pada reaksi IMViC (*Indol, Merah-metil, Voges-Proskauer, Citrat*).

**Escherichia** : indol positif, merah-metil positif, VP negatif, sitrat negatif.

**Enterobacter**: indol negatif, merah-metil negatif, VP positif, sitrat positif

### **Genus *Klebsiella***

Batang negatif Gram, meragi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas, gerak negatif, indol bervariasi, koloni mukoid

### **Genus *Salmonella***

Batang negatif Gram, gerak positif, meragi glukosa membentuk asam dan gas kecuali pada *Salmonella typhi*, tidak meragi laktosa dan indol negatif.

### **Genus *Shigella***

Batang negatif Gram, gerak negatif, meragi glukosa tanpa pembentukan gas, tidak meragi laktosa, indol bervariasi.

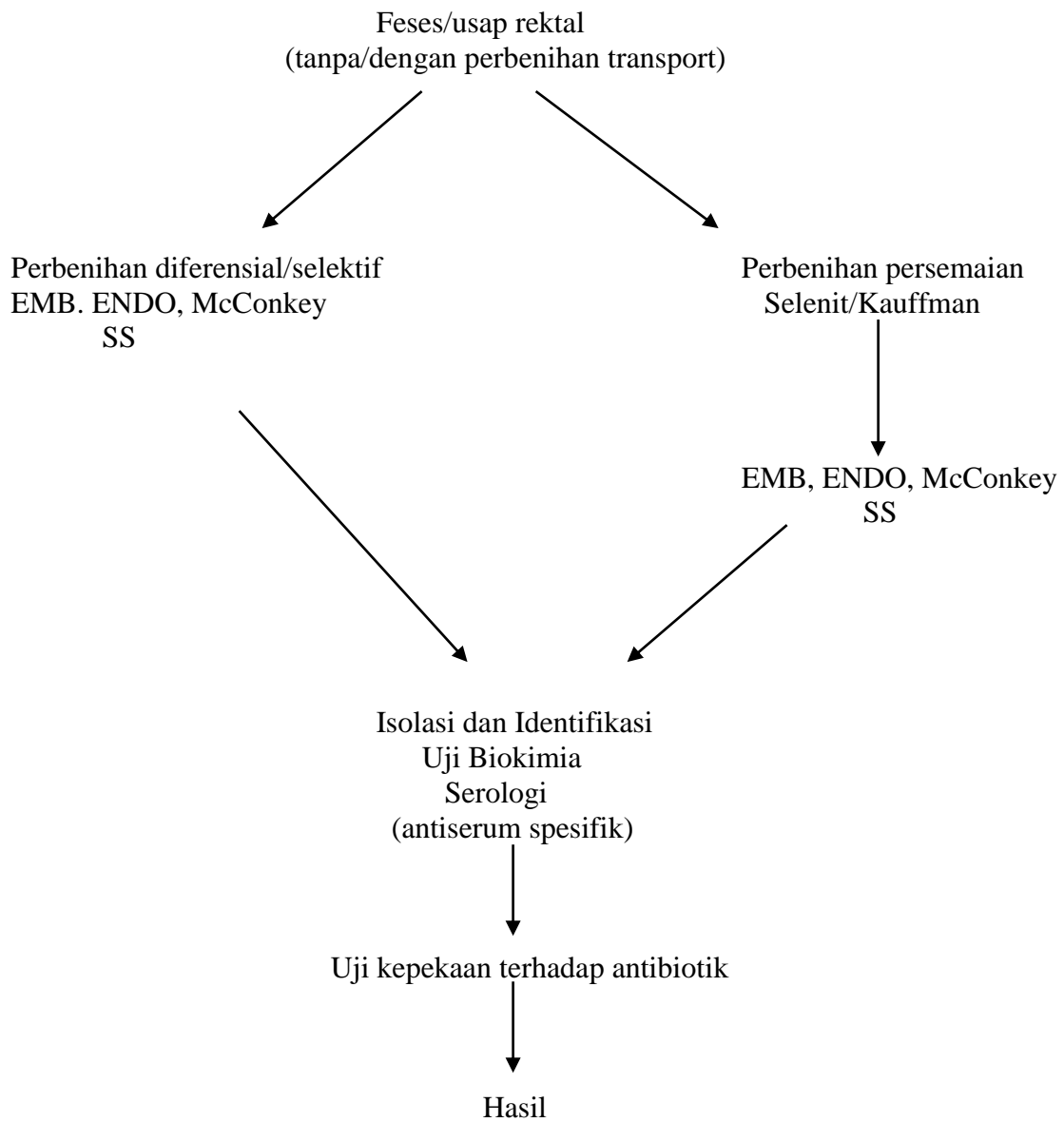
### **Genus *Proteus***

Batang negatif Gram pleomorfik, gerak positif meragi glukosa tidak meragi laktosa, menghasilkan enzim ureasa, koloni menjalar.

### **Genus *Yersinia***

Batang pendek negatif Gram, bipolar, tidak bergerak, meragi glukosa tanpa membentuk gas, tidak meragi laktosa, ureasa positif. *Yersinia enterocolitica* tumbuh baik pada suhu 22° - 25° C, bergerak pada suhu 25° C, tidak bergerak pada suhu 37° C. Dengan pewarnaan khusus Wayson terlihat bentuk bipolar.

## Isolasi dan identifikasi bakteri enterik dari faeses atau usap rektal





## Isolasi dan identifikasi bakteri enterik

Perbenihan transport : Stuart, Carry-Blair

Perbenihan diferensial : ENDO, EMB (Eosin Metilen Blue), Mc Conkey .

Perbenihan selektif : SS (Salmonella-Shigella)

Perbenihan persemaian : Selenit dan Kauffman

Uji biokimia :

Glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sukrosa, TSIA (Triple Sugar Iron Agar), indol, merah-metil, VP, sitrat, gerak.

Serologi :

Antiserum spesifik untuk *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A,B* dan *C*.

Antiserum spesifik untuk *Shigella* (*S. dysenteriae*, *S. Sonnei*, *S. flexnerii*, *S. boydii*).

Melakukan isolasi bakteri enterik dari feses.

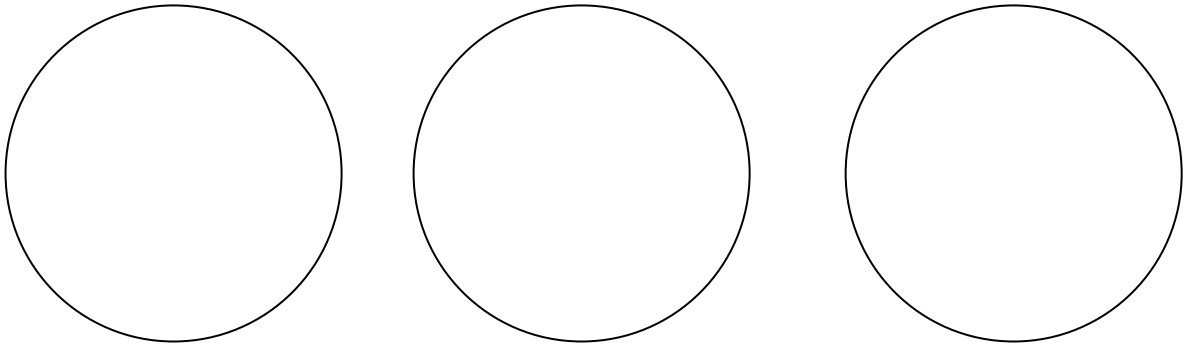
- Bahan :
1. Perbenihan diferensial ENDO/EMB
  2. Perbenihan selektif SS (*Salmonella-Shigella*)
  3. Faeses/Usap rectal

Tugas : Melakukan penanaman faeses dengan menggores secara penipisan pada agar Endo, EMB dan SS.

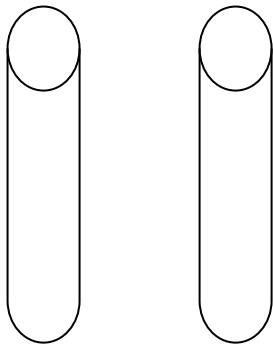
Pertunjukkan :

1. Pewarnaan Gram *E. coli*, *Salmonella* dan *Shigella*.
2. Perbenihan transport : Stuart, Carry-Blair
3. Perbenihan diferensial : agar ENDO, Mc Conkey, EMB
4. Perbenihan selektif : agar SS
5. Perbenihan persemaian : Selenit, Kauffman
6. Biakan *Escherichia coli* pada ENDO, EMB, SS
7. Biakan *Salmonella* pada ENDO, EMB, SS
8. Biakan *Shigella* pada ENDO, EMB, SS
9. Biakan campuran bakteri peragi dan bukan peragi laktosa pada Endo, EMB, SS.
10. Uji biokimia *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*
11. Uji biokimia *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B/C*.
12. Uji biokimia *Shigella sp.*
13. Uji biokimia *Proteus sp.*

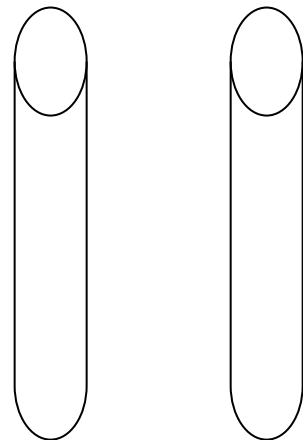
**1. Pewarnan Gram *Escherichia coli*, *Salmonella* dan *Shigella***



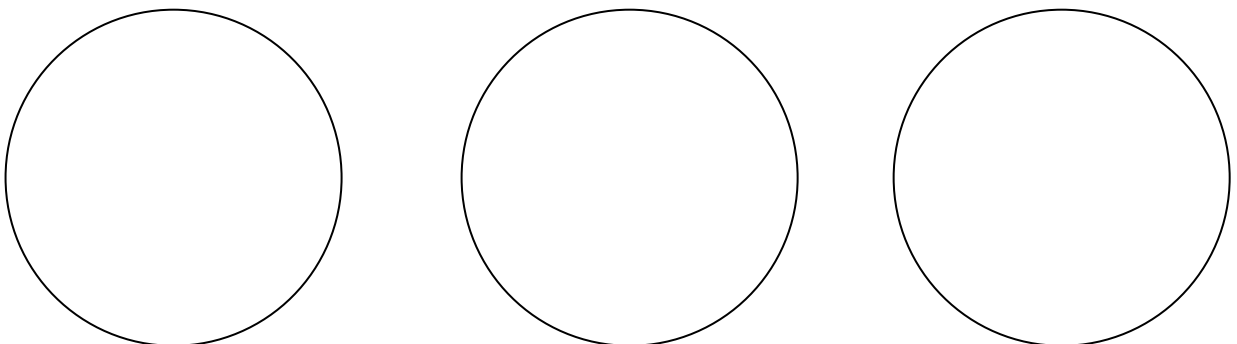
**2. Perbenihan transport**



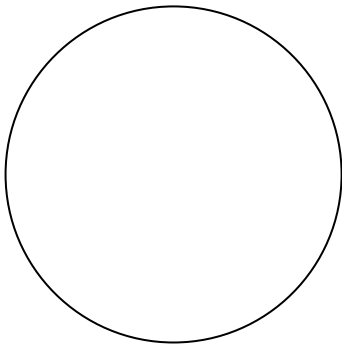
**3. Perbenihan persemaian**



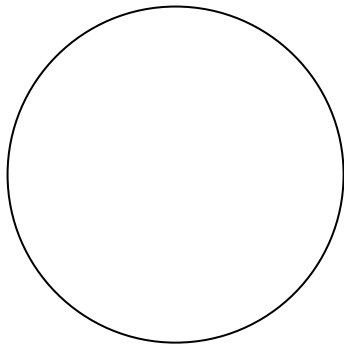
**4. Perbenihan diferensial**



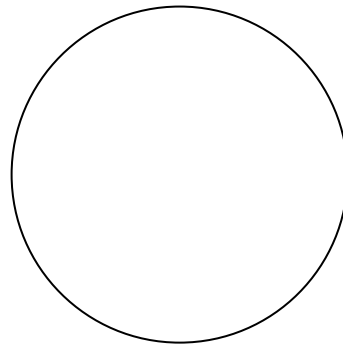
**5. Perbenihan selektif SS (Salmonella-Shigella)**



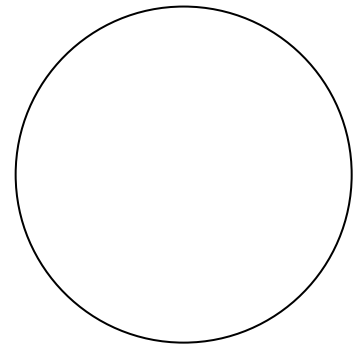
**6. Biakan bakteri peragi dan tidak peragi laktosa pada ENDO, EMB dan SS**



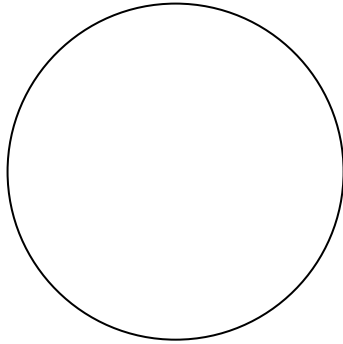
Bakteri :.....  
Perbenihan :.....  
Keterangan : .....



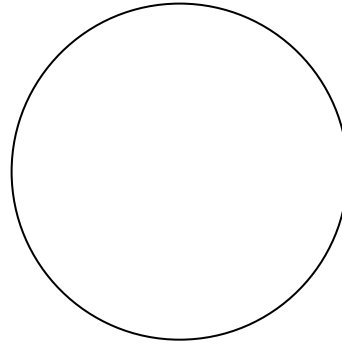
Bakteri :.....  
Perbenihan :.....  
Keterangan : .....



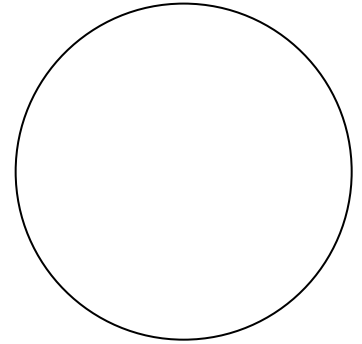
Bakteri :.....  
Perbenihan :.....  
Keterangan : .....



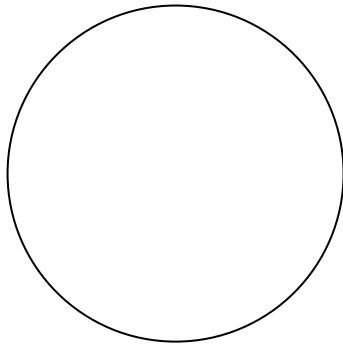
Bakteri :.....  
 Perbenihan :.....  
 Keterangan : .....



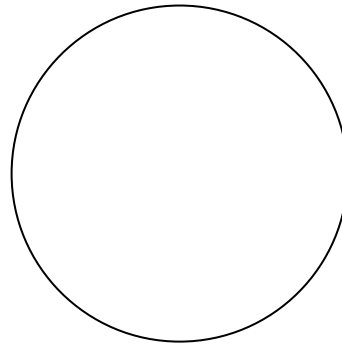
Bakteri :.....  
 Perbenihan :.....  
 Keterangan : .....



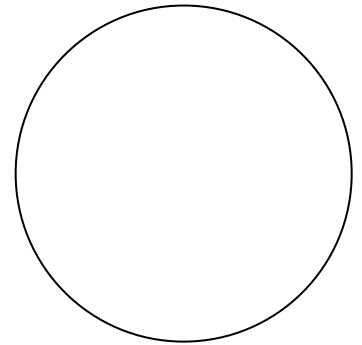
Bakteri :.....  
 Perbenihan :.....  
 Keterangan : .....



Bakteri :.....  
 Perbenihan :.....  
 Keterangan : .....

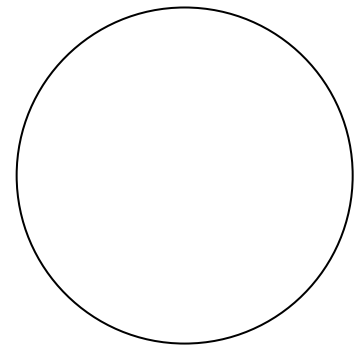
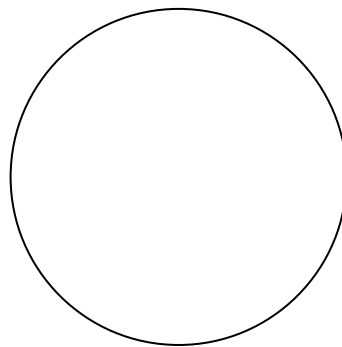
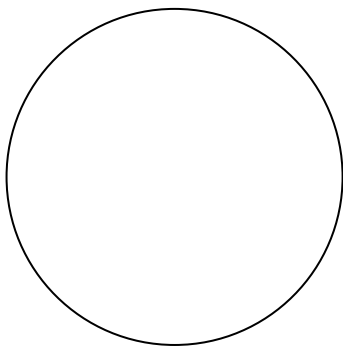


Bakteri :.....  
 Perbenihan :.....  
 Keterangan : .....

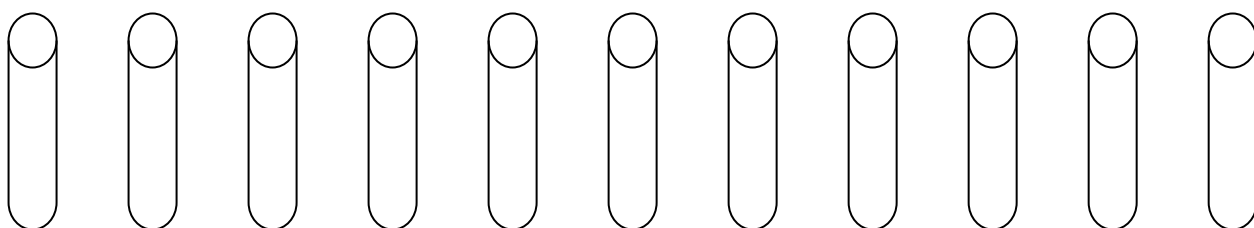
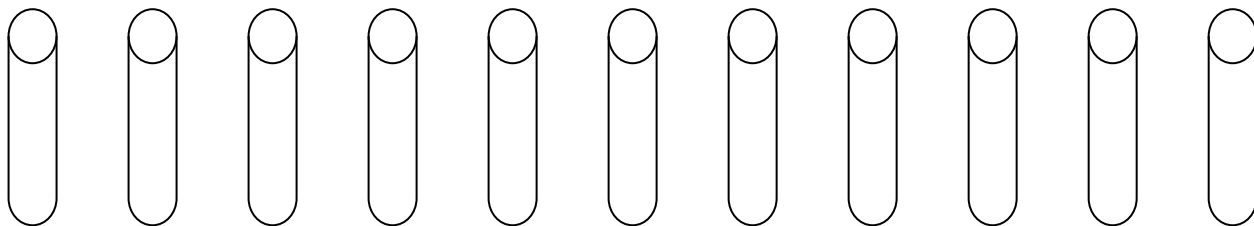


Bakteri :.....  
 Perbenihan :.....  
 Keterangan : .....

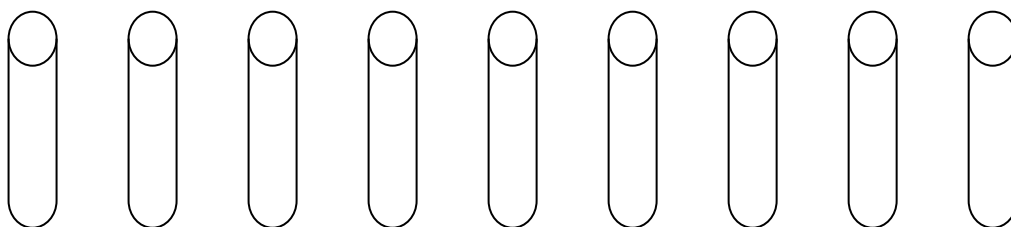
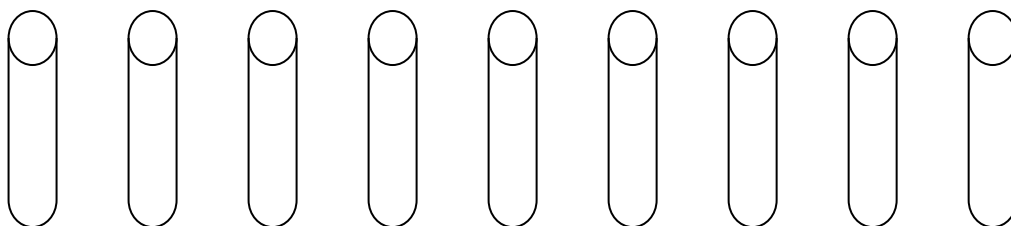
**7. Biakan tinja (campuran peragi dan bukan peragi laktosa) pada ENDO, EMB dan SS**



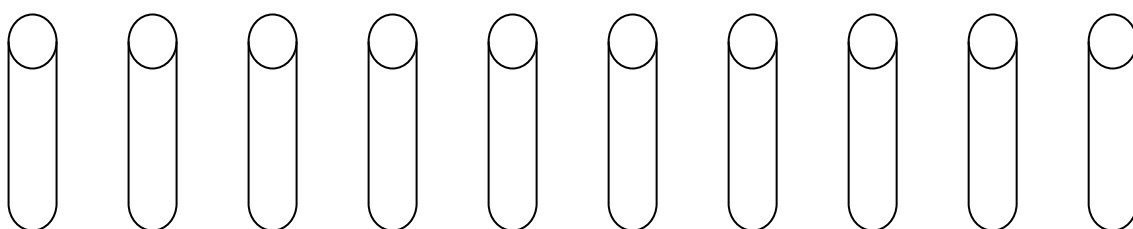
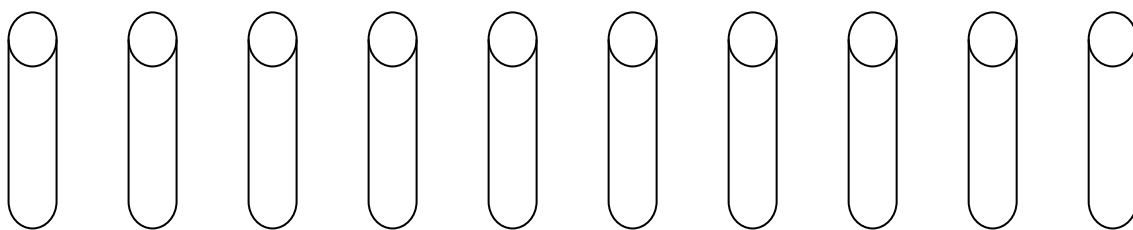
**8. Uji biokimia *Escherichia coli* dan *Enterobacter aerogenes***



**9. Uji biokimia *Salmonella typhi* dan *Shigella sonnei***



**10. Uji biokimia *Salmonella paratyphi B/C* dan *Proteus mirabilis***



**Tabel uji biokimia:**

| Bakteri                  | gluk | lakt | manit | malt | sakh | TSIA | indol | MM | VP | sitrat | grk | ureasa |
|--------------------------|------|------|-------|------|------|------|-------|----|----|--------|-----|--------|
| Escherichia coli         |      |      |       |      |      |      |       |    |    |        |     |        |
| Enterobacter aerogenes   |      |      |       |      |      |      |       |    |    |        |     |        |
| Shigella sonnei          |      |      |       |      |      |      |       |    |    |        |     |        |
| Salmonella typhi         |      |      |       |      |      |      |       |    |    |        |     |        |
| Salmonella paratyphi A   |      |      |       |      |      |      |       |    |    |        |     |        |
| Salmonella paratyphi B/C |      |      |       |      |      |      |       |    |    |        |     |        |
| Proteus mirabilis        |      |      |       |      |      |      |       |    |    |        |     |        |

## Familia VIBRIONACEAE

### Genus *Vibrio*

Batang bengkok seperti koma negatif Gram, bergerak aktif, flagel monotrikh, meragi glukosa tanpa gas, tidak meragi laktosa, reaksi indol positif, merah kolera negatif, tumbuh baik pada pH alkali.

*Vibrio cholerae* dan *Vibrio eltor* meragi glukosa dan sakharosa tanpa gas.  
*Vibrio parahemolyticus* meragi glukosa tanpa gas, tidak meragi sukrosa.

### Isolasi dan identifikasi :

Untuk mengasingkan bakteri ini dipakai perbenihan selektif yang eksklusif dengan pH tinggi di atas 8,2. Perbenihan transport digunakan "Carry-Blair", dan untuk perbenihan persemaian pepton alkali. Sebagai medium pertumbuhan dapat digunakan perbenihan padat agar glikokol/ agar soda/ agar TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Sucrose*) dengan indikator biru brom timol). *Vibrio* peragi sukrosa pada perbenihan TCBS membentuk warna kuning, *Vibrio* yang tidak peragi sukrosa warna hijau.

Identifikasi selanjutnya dilakukan reaksi serologi dengan antiserum polivalen O1 dan uji biokimia. Hasil positif dengan antiserum polivalen O1 disebut "agglutinable vibrio" (*Vibrio cholerae* dan *Vibrio eltor*), hasil negatif dengan antiserum polivalen O1 disebut "non-agglutinable vibrio".

Untuk membedakan *Vibrio cholerae* dan *Vibrio eltor* dilakukan percobaan:

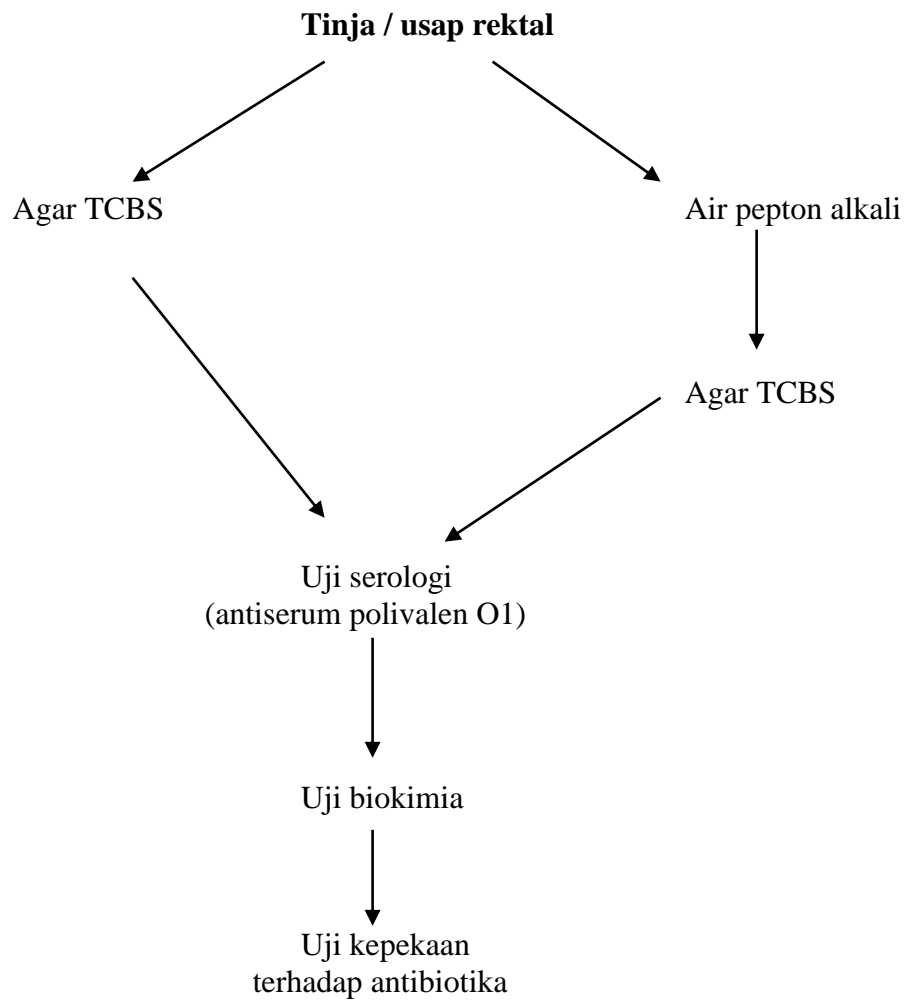
1. Hemaglutinasi sel darah merah ayam 3%
2. Sensitivitas terhadap Faga tipe IV
3. Sensitivitas terhadap Polimiksin B
4. Hemolisa sel darah merah kambing
5. Reaksi Voges-Proskauer (pembentukan asetil metil karbinol).

### Reaksi serologi terhadap antiserum polivalen O1 :

Buat suspensi bakteri dengan NaCl faal pada gelas alas  
Teteskan antiserum polivalen O1, aduk sampai rata.  
Sediakan satu kontrol tanpa antiserum.  
Goyang-goyang gelas alas.  
Periksa ada/tidaknya aglutinasi.

Hasil : Positif → "*agglutinable vibrio*" (*Vibrio cholerae/ Vibrio eltor*)  
Negatif → "*non-agglutinable vibrio*" (*bukan Vibrio cholerae/Vibrio eltor*)

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI VIBRIO

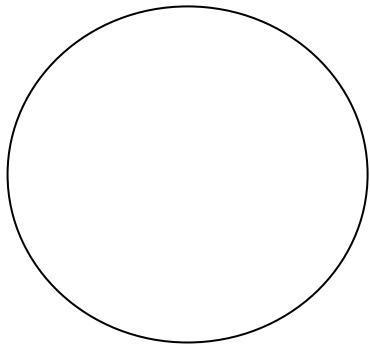




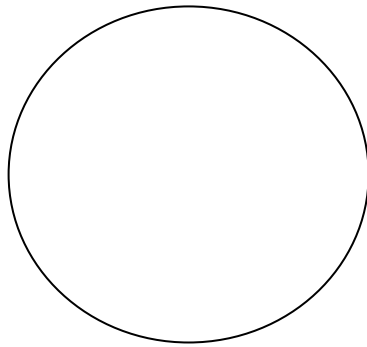
Pertunjukkan :

1. Perbenihan TCBS dan air pepton alkali
2. Biakan *Vibrio cholerae* pada TCBS
3. Biakan *Vibrio eltor* pada TCBS
4. Biakan *Vibrio parahaemolyticus* pada TCBS
5. Preparat Gram *Vibrio*
6. Uji Hemaglutinasi
7. Uji Faga tipe IV
8. Uji Polimiksin B
9. Uji VP
10. Hemolisa

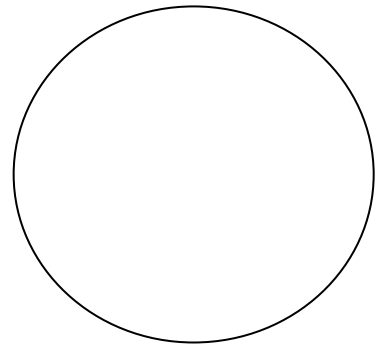
1. Perbenihan TCBS steril dan biakan Vibrio pada TCBS



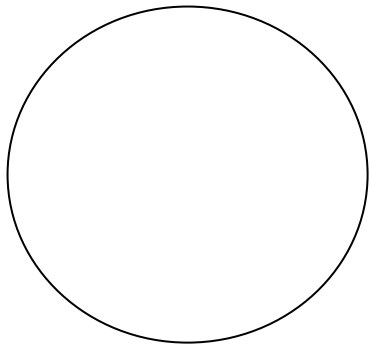
.....  
.....



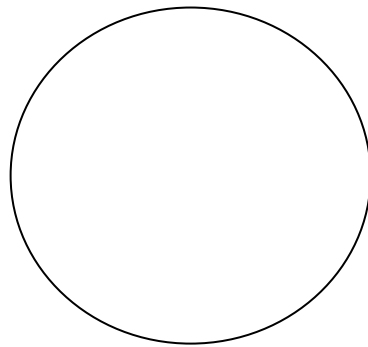
.....  
.....



.....  
.....

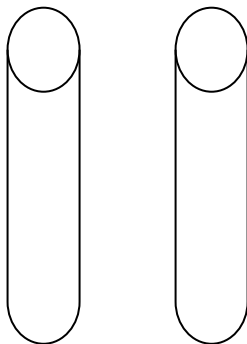


.....  
.....

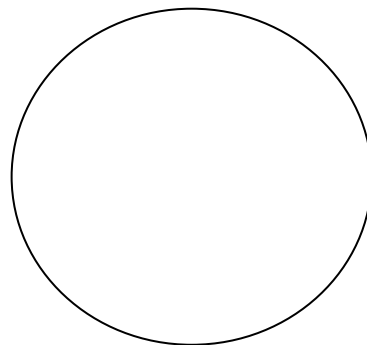


.....  
.....

2. Air pepton alkali



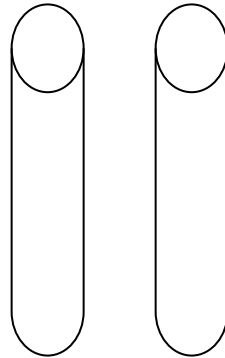
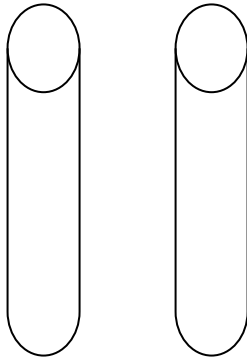
3. Preparat Gram Vibrio



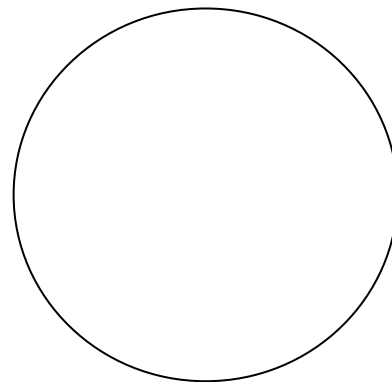
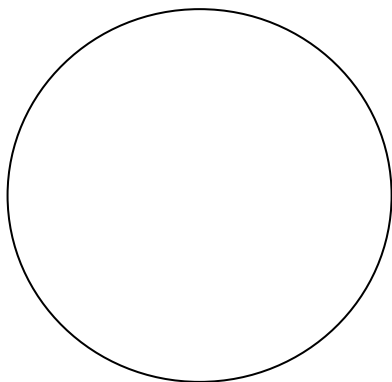
..... an *Vibrio eltor*  
.....

.....  
.....

P)



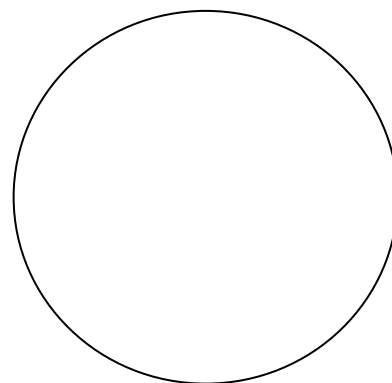
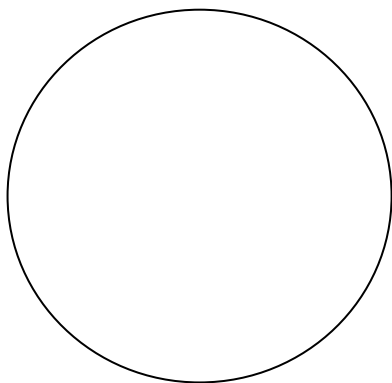
**c. Uji Faga tipe IV**



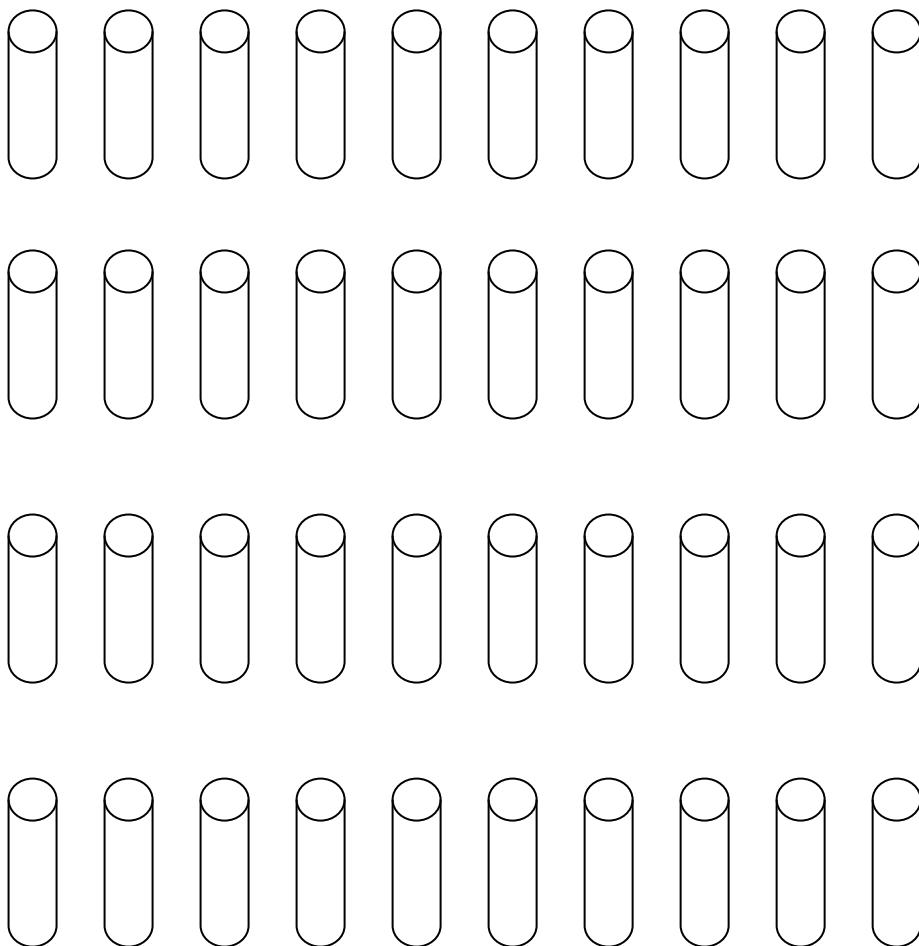
.....  
.....

.....  
.....

**d. Uji Polimiksin B**



4.



|                                  | gluk | lakt | manit | malt | sakh | TSIA | indol | merah<br>kolera | hemo-<br>lisa | gerak |
|----------------------------------|------|------|-------|------|------|------|-------|-----------------|---------------|-------|
| <i>V. cholerae</i>               |      |      |       |      |      |      |       |                 |               |       |
| <i>V. eltor</i>                  |      |      |       |      |      |      |       |                 |               |       |
| <i>V. para -<br/>hemolyticus</i> |      |      |       |      |      |      |       |                 |               |       |
| <i>V. air</i>                    |      |      |       |      |      |      |       |                 |               |       |

## **Familia PSEUDOMONADACEAE**

### **Genus Pseudomonas**

*Pseudomonas* sp. adalah bakteri oportunistis. Merupakan flora normal di kulit, di dalam usus. Infeksi biasanya terjadi pada lokus yang lemah pada tubuh, seperti pada luka bakar, gangren dan infeksi saluran kemih. Genus ini juga penyebab infeksi nosokomial.

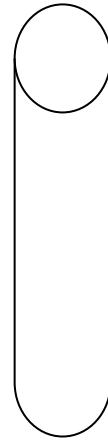
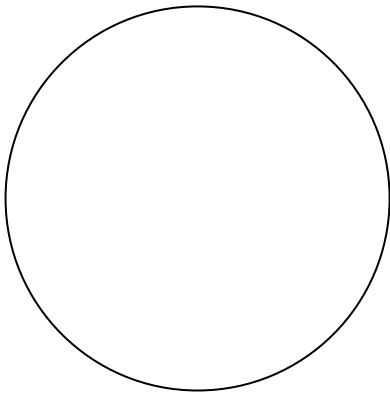
*Pseudomonas* berbentuk batang negatif Gram bersifat aerob obligat, oksidasi positif, bergerak, umumnya tidak meragi karbohidrat. Beberapa spesies mengandung pigmen, seperti *Pseudomonas aeruginosa* mengandung pigmen piosianin berwarna hijau.

*Pseudomonas* umumnya resisten terhadap berbagai antibiotika.

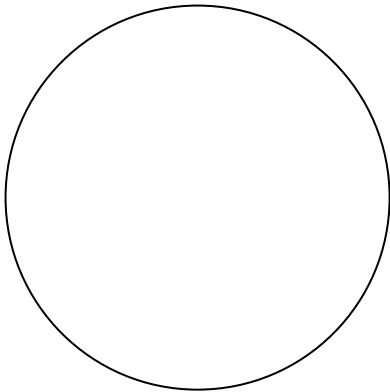
Pertunjukan:

1. Biakan *Pseudomonas aeruginosa* pada lempeng agar darah
2. Biakan *Pseudomonas aeruginosa* pada agar nutrient
3. Preparat Gram *Pseudomonas* sp.
4. Uji oksidasi
5. Uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa*

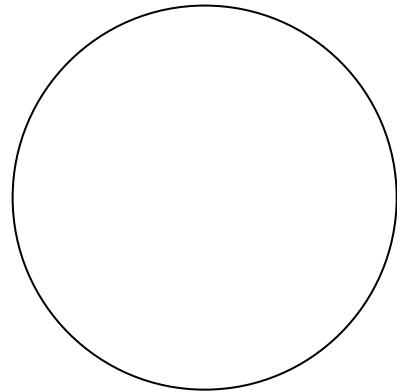
**1. Biakan *Pseudomonas aeruginosa* pada agar darah dan tabung agar nutrien**



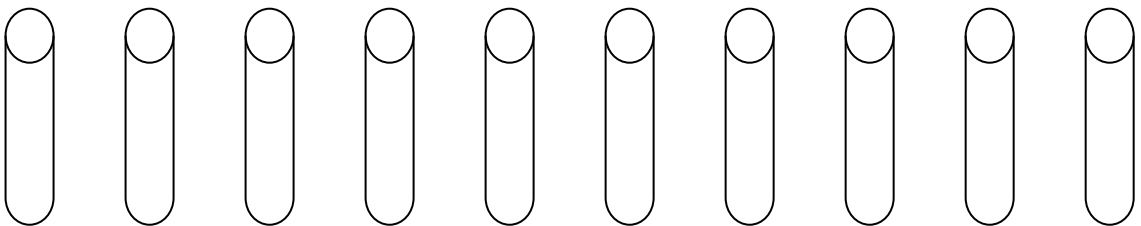
**2. Tes Oksidasa *P. aeruginosa***



**3. Preparat Gram *P. aeruginosa***



**3. Uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa***



## **KULTUR DARAH PENDERITA TIFOID & UJI WIDAL**

Pada penderita demam tifoid minggu pertama sakit, pemeriksaan mikrobiologi adalah isolasi bakteri dari darah, bakteri ada dalam darah (bakteremia). Setelah minggu pertama, dapat dilakukan pemeriksaan antibodi dari darah dengan uji serologi (uji WIDAL).

### **Kultur bakteri dari darah**

Darah penderita di ambil secara aseptis, masukkan dalam botol kultur (1:10). Inkubasi 37° C. Bila ada pertumbuhan lakukan subkultur ke perbenihan lempeng agar darah dan agar Mc Conkey, inkubasi 37° C, 24 jam. Periksa koloni, lakukan pewarnaan Gram, isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas terhadap antibiotik. Bila pada botol kultur belum ada pertumbuhan, inkubasi kembali selama 5 hari. Bila dalam 5 hari tidak ada pertumbuhan, biakan dinyatakan negatif.

### **Uji WIDAL**

Bila diperkirakan bakteri sudah tidak ada di dalam darah, lakukan pemeriksaan antibodi. Ambil darah penderita, pisahkan serum, lakukan uji Widal.

#### **Cara melakukan uji Widal :**

Kit untuk uji Widal telah tersedia secara komersial.

Terdiri dari :

|                              |                              |
|------------------------------|------------------------------|
| Antigen O, Salmonella Grup A | Antigen H, Salmonella Grup A |
| Antigen O, Salmonella Grup B | Antigen H, Salmonella Grup B |
| Antigen O, Salmonella Grup C | Antigen H, Salmonella Grup C |
| Antigen O, Salmonella Grup D | Antigen H, Salmonella Grup D |
| Kontrol serum positif        |                              |
| Kontrol serum negatif        |                              |

Cara kerja:

#### **A. Rapid slide test**

1. Sediakan plat khusus yang terdiri dari lingkaran-lingkaran diameter 27 mm
2. Teteskan serum pasien pada lingkaran- lingkaran tersebut :  
0,08 ml 0,04 ml 0,02ml 0,01 ml 0,005 ml
3. Teteskan antigen sebanyak 1 tetes.  
Lakukan juga untuk kontrol serum positif dan negatif.
4. Campur antigen dengan serum.
5. Goyang secara hati-hati selama 1 menit, lihat adanya aglutinasi.
6. Titer sesuai dengan:  
1 : 20    1 : 40    1 : 80    1 : 160    1 : 320

## **B. Cara tabung**

1. Sediakan 10 tabung pada rak. Tambahkan 1,9 ml saline pada tabung pertama dan 1 ml untuk masing-masing tabung berikutnya.
2. Tambahkan 0,1 ml serum pasien pada tabung pertama, kocok.
3. Pindahkan 1 ml dari tabung pertama ke dalam tabung kedua, kemudian 1 ml dari tabung kedua ke tabung ke 3 dan seterusnya.
4. Tambahkan 1 tetes antigen ke dalam masing-masing tabung.
5. Kocok, kemudian inkubasi.  
Titration O, 50°C, selama 4 jam  
Titration H, 50°C, selama 2 jam

Hasil:

Aglutination manunjukkan adanya antibodi.

Kenaikan titer dari serum masa akut ke serum masa konvalesen sebanyak  $\geq 4$  kali menunjukkan adanya infeksi

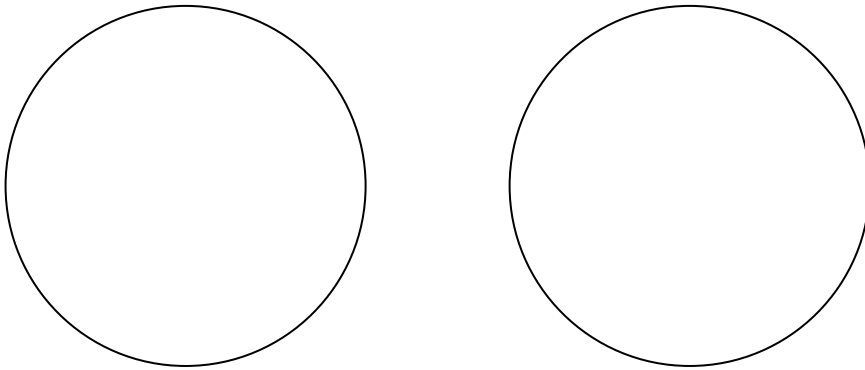
Pertunjukan :

1. Botol kultur darah, medium agar darah dan agar Mc Conkey
2. Biakan darah dalam botol kultur (biakan positif dan biakan negatif)
3. Biakan *Salmonella typhi* pada lempeng agar darah dan Mc Conkey
4. Biakan negatif pada lempeng agar darah dan Mc Conkey
5. Uji biokimia *Salmonella typhi*
6. Uji resistensi *Salmonella typhi*
7. Uji WIDAL
8. Uji TUBEX

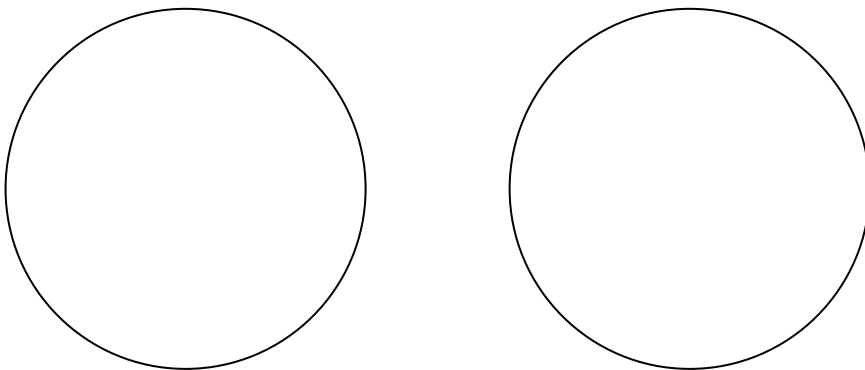


1. Macam-macam botol kultur darah

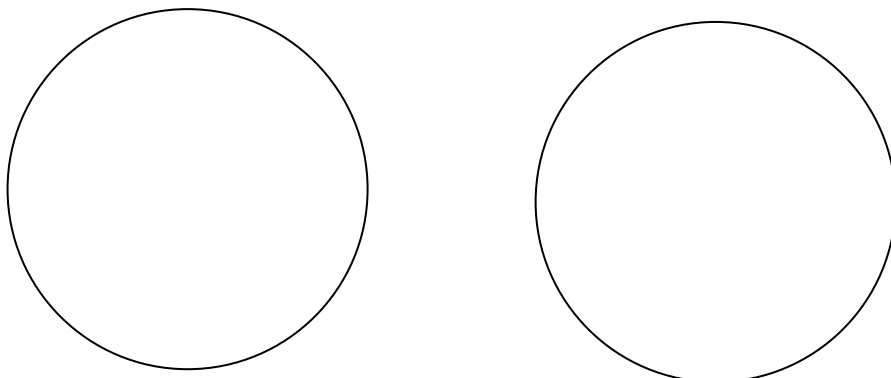
2. Perbenihan agar darah dan agar Mc Conkey



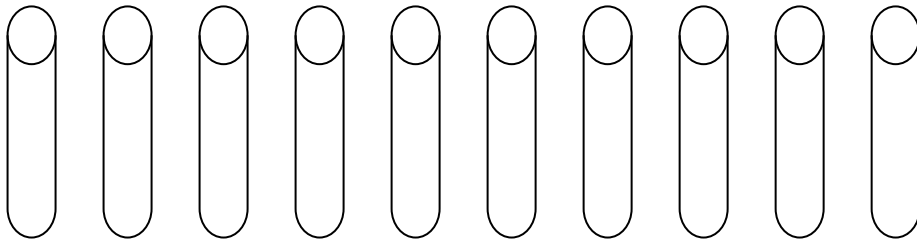
3. Biakan darah pada agar darah dan agar Mc Conkey



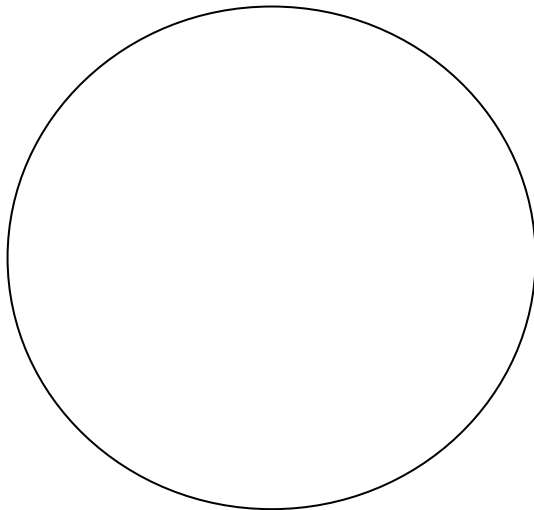
4. Preparat Gram :



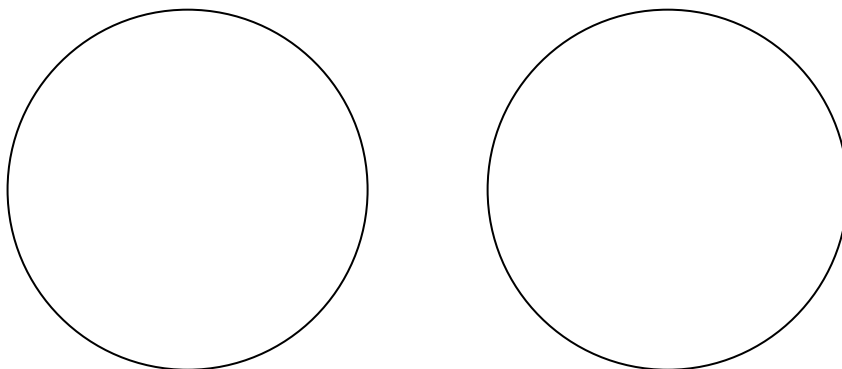
5. Uji biokimia batang negatif Gram



6. Uji sensitivitas terhadap antibiotik

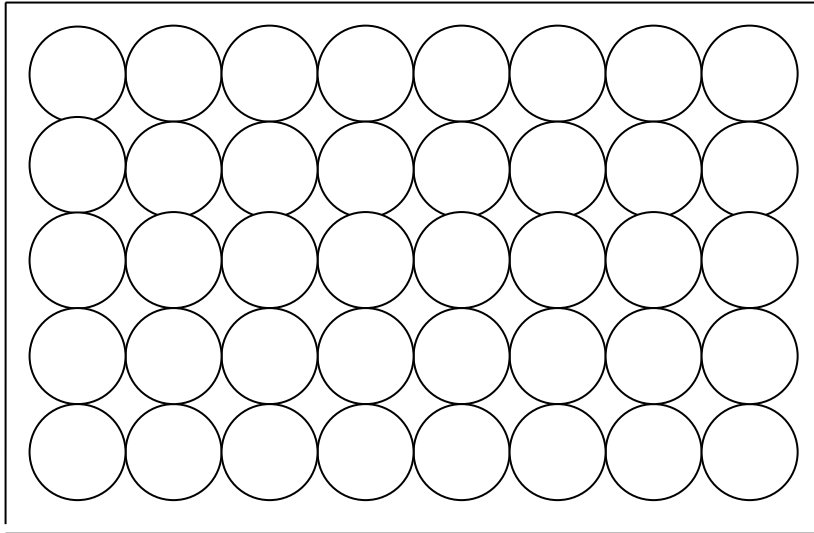


7. Kultur darah setelah 5 hari tidak ada pertumbuhan



Hasil : Biakan negatif

**Gambar uji WIDAL**



**Gambar uji TUBEX**

## PEMERIKSAAN AIR

Air yang terdapat di alam merupakan habitat yang baik untuk mikroorganisme, beberapa diantaranya adalah mikroorganisme patogen.

Agar dapat digunakan suatu sumber air minum harus disterilisasi, misalnya dengan pemanasan, penyaringan atau pemberian kaporit dll. Untuk menentukan apakah suatu sumber air baik atau tidak dari sudut mikrobiologi, dilakukan pemeriksaan indeks kontaminasi feses. Sebagai indikator tercemarnya air digunakan bakteri *Escherichia coli*. Ditemukannya *Escherichia coli* pada suatu sumber air menunjukkan air tersebut terkontaminasi tinja manusia atau hewan. Di dalam persyaratan mikrobiologi parameter yang digunakan adalah:

- Jumlah total bakteri coliform (total coliform)
- E. coli

### **Cara pemeriksaan air:**

#### **Pengambilan sampel**

Sampel air yang akan diperiksa diambil dengan botol bersih yang steril.

#### **Cara pengambilan sampel air dari kran:**

1. Kran di buka biarkan air mengalir selama 2-3 menit
2. Tutup kran kembali
3. Panaskan mulut kran dengan api sampai uap air keluar dari mulut kran atau bersihkan dengan alkohol 70%
4. Kran dibuka kembali, dan air dibiarkan mengalir beberapa saat
5. Botol sampel dipegang dengan tangan kanan, kemudian tutup botol dibuka dan dipegang dengan tangan kiri, lewatkan mulut botol pada nyala api, kemudian isi dengan sampel air sebanyak 100-200 ml.
6. Lewatkan mulut botol pada nyala api, dan botol ditutup kembali.

#### **Cara pengambilan sampel air dari sungai, kolam , danau dll :**

1. Botol steril diisi setengahnya dengan sampel air yang akan diperiksa, ditutup kembali dan dikocok sampai rata, buang airnya dan botol ditutup kembali.
2. Masukkan botol dalam keadaan tertutup ke dalam air sedalam 20-30 cm dari permukaan, arahkan mulut botol melawan arus air, buka tutup botol dan isi botol sampai penuh, kemudian botol ditutup kembali (semua pekerjaan tersebut dilakukan dibawah permukaan air).

## **Prosedur pemeriksaan:**

### **Bahan :**

- Perbenihan Lactose Broth (kaldu laktosa)
- Perbenihan BGLB (Brilliant Green Lactose Broth)
- Agar nutrient
- Agar Endo
- Deretan uji biokimia

Uji mikrobiologik terhadap *Escherichia coli* sebagai parameter berlangsung dalam 3 tahap utama, yaitu:

### **I. Presumptive test (Uji perkiraan)**

1. Masukkan 10 ml sampel air ke dalam 5 tabung kaldu laktosa (seri I)
2. Masukkan 1 ml sampel air ke dalam 5 tabung kaldu laktosa (seri II)
3. Masukkan 0,1 ml sampel air ke dalam 5 tabung kaldu laktosa (seri III)
4. Inkubasi semua tabung pada suhu 35° C, 24 jam.
5. Lihat pertumbuhan, periksa terbentuknya gas dalam tabung

### **II. Confirmed Test (Uji konfirmasi)**

1. Dari setiap tabung yang ada gas, inokulasikan ke dalam tabung BGLB
2. Lakukan duplo
3. Inkubasi pada suhu 35° C dan suhu 44° C, 24 jam
4. Periksa terbentuknya gas.
5. Tentukan MPN (lihat tabel):
  - i. Koliform tinja = Jumlah per 100 ml
  - ii. Total koliform = Jumlah per 100ml

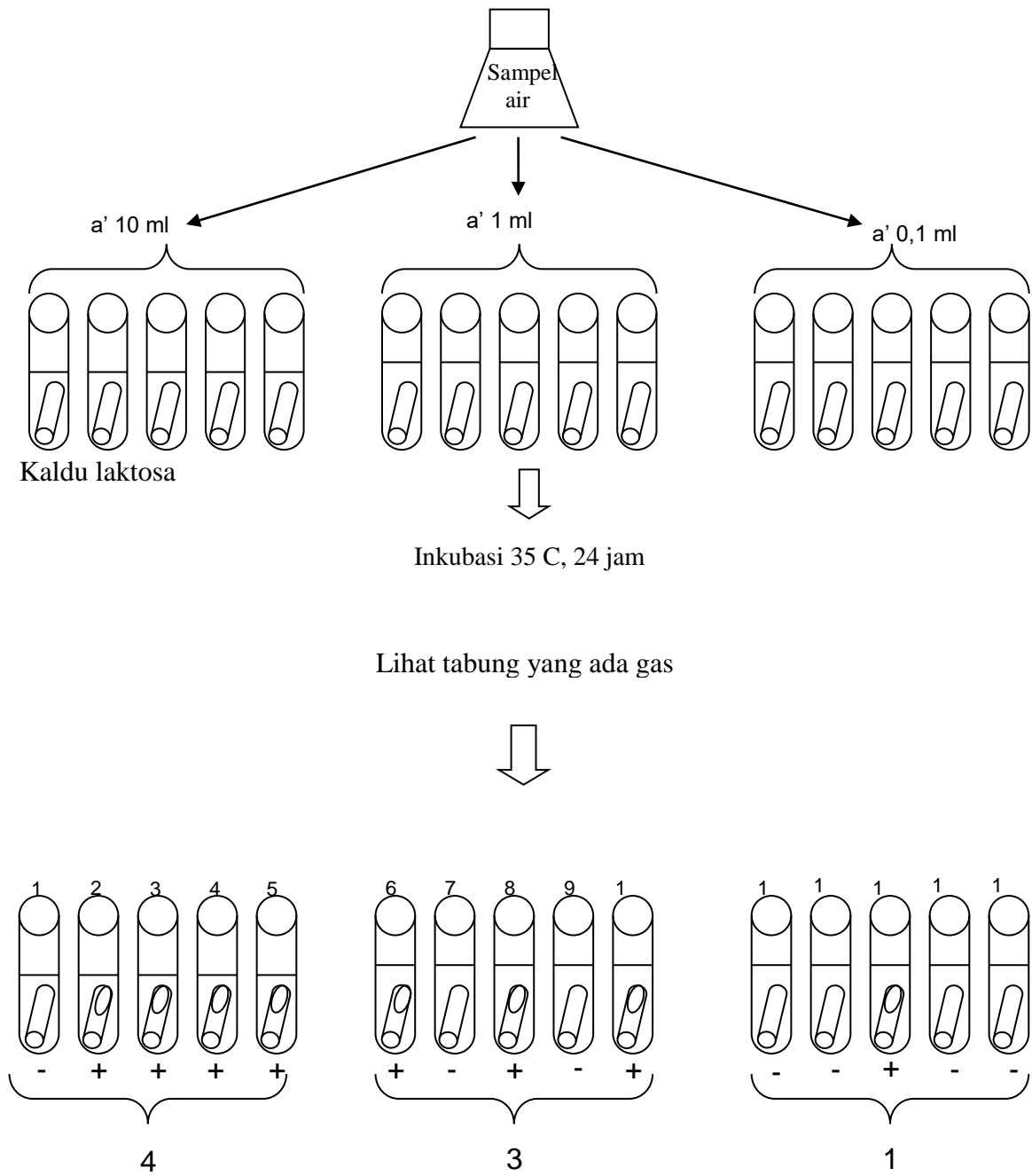
### **III. Completed Test (Uji lengkap)**

1. Dari masing-masing tabung BGLB yang ada gas, tanam pada perbenihan ENDO
2. Lakukan uji biokimia lengkap (IMVIC)
3. Laporkan hasil
4. Bila *E. coli* tumbuh pada suhu 44° C → berarti "*faecal coli*" (*E. coli* dari tinja)

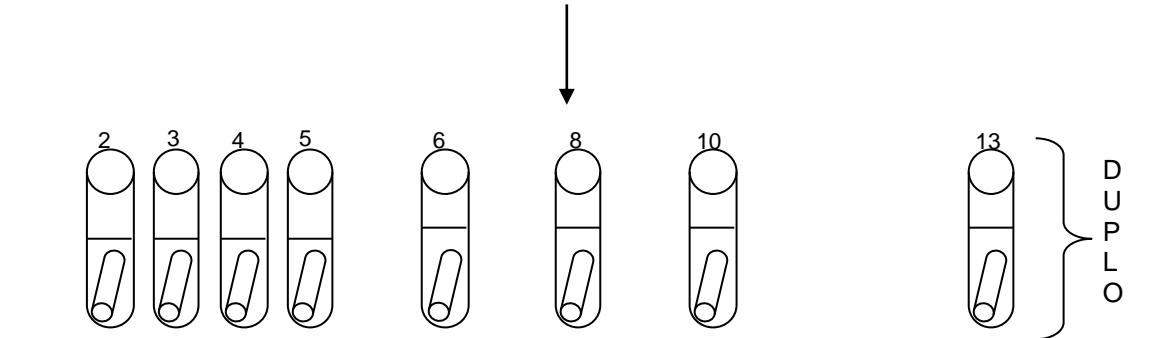
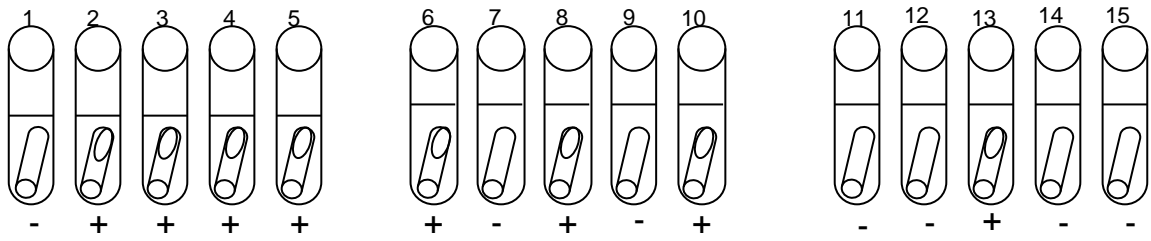
Syarat-syarat kualitas air minum berdasarkan KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA NOMOR 492/MENKES/Per/IV/2010 tanggal 19 April 2010:

1. Total *Coliform* = 0
2. *Escherichia coli* tidak ditemukan

### I. Presumptive test



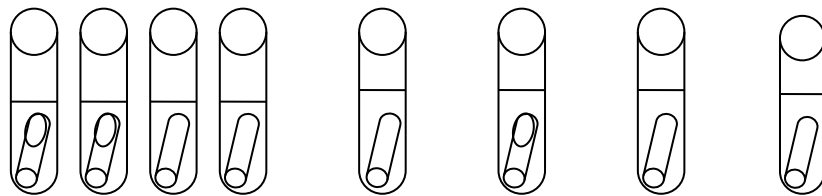
**II. Confirmed test**



**BGLB**  
(*Brilliant Green Lactose Broth*)

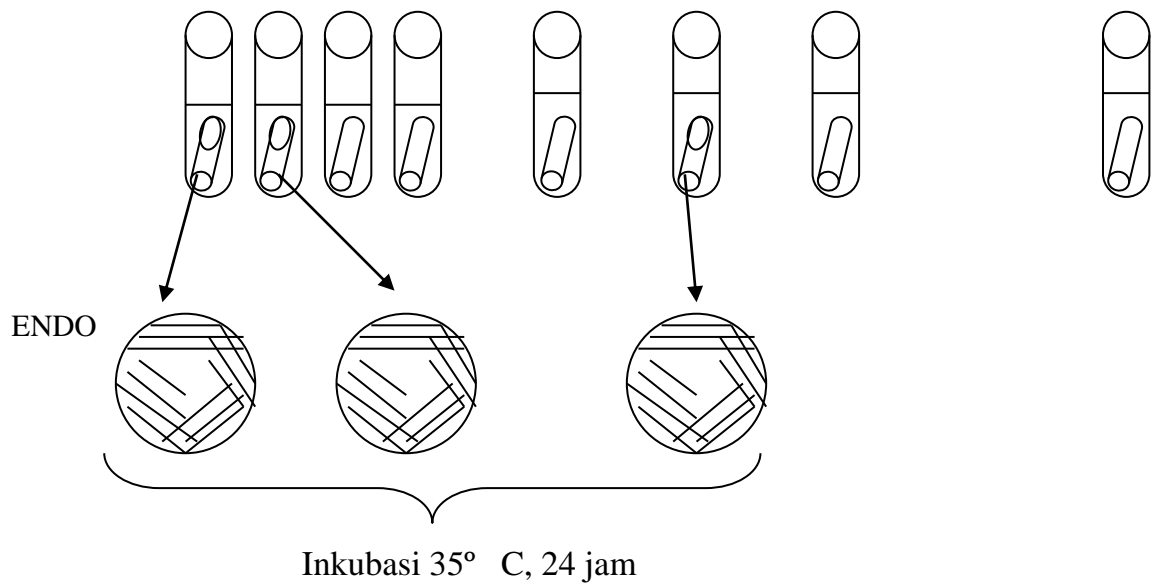
Inkubasi pada 35° C dan 44° C

Lihat tabung yang ada gas  
Tentukan MPN  
(lihat tabel)

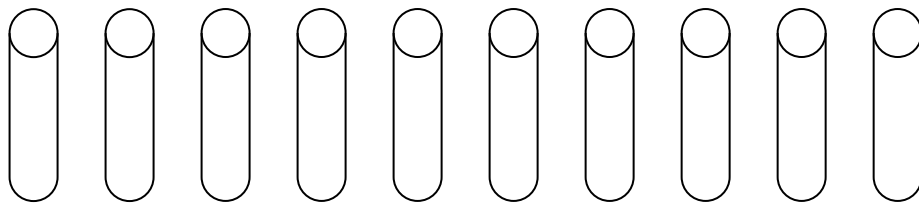


MPN:  
Koliform tinja = .....  
Total koliform = .....

**III. Completed Test (uji lengkap)**



Uji biokimia pada deretan gula-gula





**Tabel MPN:**

| Volume |   |     | Index<br>MPN/100 ml | Volume |   |     | Index<br>MPN/100 ml |
|--------|---|-----|---------------------|--------|---|-----|---------------------|
| 10     | 1 | 0,1 |                     | 10     | 1 | 0,1 |                     |
| 0      | 0 | 0   | <2                  | 4      | 2 | 1   | 26                  |
| 0      | 0 | 1   | 2                   | 4      | 3 | 0   | 27                  |
| 0      | 1 | 0   | 2                   | 4      | 3 | 1   | 33                  |
| 0      | 2 | 0   | 4                   | 4      | 4 | 0   | 34                  |
| 1      | 0 | 0   | 2                   | 5      | 0 | 0   | 23                  |
| 1      | 0 | 1   | 4                   | 5      | 0 | 1   | 31                  |
| 1      | 1 | 0   | 4                   | 5      | 0 | 2   | 43                  |
| 1      | 1 | 1   | 6                   | 5      | 1 | 0   | 33                  |
| 1      | 2 | 0   | 6                   | 5      | 1 | 1   | 46                  |
| 2      | 0 | 0   | 5                   | 5      | 1 | 2   | 63                  |
| 2      | 0 | 1   | 7                   | 5      | 2 | 0   | 49                  |
| 2      | 1 | 0   | 7                   | 5      | 2 | 1   | 70                  |
| 2      | 1 | 1   | 9                   | 5      | 2 | 2   | 94                  |
| 2      | 2 | 0   | 9                   | 5      | 3 | 0   | 79                  |
| 2      | 3 | 0   | 12                  | 5      | 3 | 1   | 110                 |
| 3      | 0 | 0   | 8                   | 5      | 3 | 2   | 140                 |
| 3      | 0 | 1   | 11                  | 5      | 3 | 3   | 180                 |
| 3      | 1 | 0   | 11                  | 5      | 4 | 0   | 130                 |
| 3      | 1 | 1   | 14                  | 5      | 4 | 1   | 170                 |
| 3      | 2 | 0   | 14                  | 5      | 4 | 2   | 220                 |
| 3      | 2 | 1   | 17                  | 5      | 4 | 3   | 280                 |
| 3      | 3 | 0   | 17                  | 5      | 4 | 4   | 350                 |
| 4      | 0 | 0   | 13                  | 5      | 5 | 0   | 240                 |
| 4      | 0 | 1   | 17                  | 5      | 5 | 1   | 350                 |
| 4      | 1 | 0   | 17                  | 5      | 5 | 2   | 542                 |
| 4      | 1 | 1   | 21                  | 5      | 5 | 3   | 920                 |
| 4      | 1 | 2   | 26                  | 5      | 5 | 4   | 1600                |
| 4      | 2 | 0   | 22                  | 5      | 5 | 5   | >2400               |

## Mikrobiologi Kedokteran

### BLOK 18 (Respirasi)

Praktikum 8 Topik: Familia Mycobacteriaceae

Praktikum 9 Topik: Familia Corynebacteriaceae

Praktikum 10 Topik: Pemeriksaan sputum dan usap tenggorok

Pengampu: Herman Sunarya, Dr. MS,  
Elisabeth Harahap, Dra, MS,  
Donna Mesina R.Pasaribu, S.Si., M.Biomed  
Wani D. Gunardi, Dr. Sp.MK  
Ade Dharmawan, dr., Sp.MK  
Nicolas Layanto, dr., Sp.MK

Waktu: 100 menit x 2 tatap muka

#### Sasaran Belajar:

1. Memahami cara pewarnaan tahan asam.
2. Memahami cara pemeriksaan bakteri tahan asam secara mikroskopik
3. Memahami cara pembiakan Mycobacterium
4. Memahami cara isolasi dan identifikasi Mycobacterium
5. Memahami cara uji resistensi Mycobacterium tuberculosis
6. Memahami cara pewarnaan Corynebacterium diphtheriae
7. Memahami cara pembiakan Corynebacterium diphtheriae
8. Memahami cara isolasi dan identifikasi Corynebacterium
9. Memahami cara uji toksisitas Corynebacterium diphtheriae secara invitro
10. Memahami pemeriksaan sputum dan usap tenggorok secara mikrobiologik.

#### Buku Wajib:

1. Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2016. Medical Microbiology. 27<sup>th</sup>ed. Mc Graw Hill Lange. New York.
2. Patrick Murray, *et al* . 2016. Medical Microbiology. 8<sup>th</sup> ed. Port Mosby, USA.
3. Goering RV, et al. Mims' Medical Microbiology. 5th ed. 2013. Elseviers

#### Referensi:

1. Mahon, *et al*. 2014. Texbook of Diagnostic Microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Wb. Saunders Company Philadelphia.
1. Bailey & Scott's, *et al*. 2016. Diagnostic Microbiology. 14<sup>th</sup> ed. Mosby, Inc. St. Louis, Missouri.

**Ringkasan :**

*Mycobacterium tuberculosis* merupakan patogen utama penyebab tuberkulosis, berbentuk batang dan mempunyai sifat tahan asam. Pewarnaan Ziehl-Neelsen adalah pewarnaan diferensial untuk bakteri tahan asam dan merupakan pewarnaan standar dan dianjurkan oleh WHO maupun Departemen Kesehatan RI. Pemeriksaan mikroskopik langsung merupakan diagnosa cepat untuk tuberkulosis, kultur *Mycobacterium tuberculosis* memerlukan waktu cukup lama (4-6 minggu). Identifikasi *Mycobacterium tuberculosis* dilakukan dengan uji biokimia. Uji resistensi dilakukan terhadap OAT (obat anti tuberkulosis).

*Corynebacterium diphtheriae* merupakan penyebab difteri, berbentuk batang positif Gram, tidak berspora, tidak bergerak. Pewarnaan diferensial untuk bakteri ini adalah pewarnaan Neisser. Perbenihan selektif untuk isolasi bakteri ini adalah agar darah telurit, identifikasi dilakukan dengan uji biokimia. Uji toksisitas dilakukan dengan uji presipitasi cara Elek-Ouchterlony.

Pemeriksaan bakteri patogen dari sputum atau usap tenggorok dilakukan dengan biakan pada perbenihan agar darah, agar coklat dan agar Mc Conkey. Identifikasi dilakukan dengan uji biokimia, serologi. Uji sensitifitas terhadap antibiotika dilakukan dengan cara difusi agar (cara cakram).

**Self-assesment:**

1. Jelaskan cara pewarnaan tahan asam
2. Jelaskan cara pemeriksaan mikroskopik bakteri tahan asam .
3. Jelaskan cara isolasi dan identifikasi *Mycobacterium*
4. Jelaskan cara uji resistensi *Mycobacterium tuberculosis*
5. Jelaskan cara pewarnaan Neisser
6. Jelaskan cara isolasi dan identifikasi *Corynebacterium diphtheriae*
7. Jelaskan cara uji toksisitas *Corynebacterium diphtheriae*
8. Jelaskan pemeriksaan sputum dan usap tenggorok secara mikrobiologik

## **Familia MYCOBACTERIACEAE**

### **PEWARNAAN TAHAN ASAM**

Pewarnaan tahan asam adalah pewarnaan diferensial untuk bakteri tahan asam. Bakteri tahan asam tetap mengikat zat warna fukhsin karbol walaupun dicuci dengan larutan asam belerang, sedangkan bakteri yang tidak tahan asam akan melepaskan fukhsin karbol bila dicuci dengan larutan asam belerang dan mengikat zat warna kedua yaitu biru metilen.

Beberapa pewarnaan bakteri tahan asam:

#### 1. Pewarnaan ZIEHL-NEELSEN

Bahan:

- Sputum penderita tuberkulosis
- Karbol fukhsin 3%
- HCl alkohol 3%
- Biru metilen 0,3%

Cara kerja:

- Pada sediaan yang telah direkatkan, tuangkan fukhsin-karbol 3%.
- Panaskan dengan api kecil sampai keluar uap (tidak boleh mendidih), diamkan selama 5 menit.
- Cuci perlahan dengan air sampai tidak ada lagi zat warna yang mengalir.
- Teteskan sediaan dengan HCl alkohol 3% sampai warna karbol fukhsin hilang atau kira-kira 2 detik.
- Cuci kembali perlahan dengan air mengalir.
- Tuang larutan biru metilen 0,3% pada sediaan, diamkan 1-2 menit
- Cuci kembali dengan air, kemudian keringkan di udara.
- Periksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 100 menggunakan minyak imersi..

#### 2. Pewarnaan KINYOUN-GABBET (TAN THIAM HOK)

Bahan:

- Sputum penderita tuberkulosis
- Larutan Kinyoun (fukhsin-karbol 4%)
- Larutan Gabbet (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + alkohol absolut + biru metilen 1%)

Cara kerja:

- Pada sediaan yang telah direkatkan, tuangkan larutan Kinyoun, diamkan selama 3 menit.
- Cuci dengan air
- Tuangkan larutan Gabbet, diamkan selama 1 menit
- Cuci dengan air, keringkan di udara.
- Periksa di bawah mikroskop.

Hasil :

- Bakteri tahan asam berwarna merah
- Bakteri yang tidak tahan asam berwarna biru

Interpretasi hasil :

**Skala IUATLD (International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases),**

Adalah pembacaan hasil yang digunakan oleh Departemen Kesehatan RI dalam buku Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberculosis tahun 2000, yaitu:

- Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang : negatif
- Ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang : tulis jumlah BTA
- Ditemukan 10-99 BTA dalam 100 lapang pandang : + atau (1+)
- Ditemukan 1-10 BTA dalam 1 lapang pandang : ++ atau (2+)
- Ditemukan >10 BTA dalam 1 lapang pandang : +++ atau (3+)

**Tugas :**

- Setiap mahasiswa mendapat 1 sediaan yang telah difiksasi
- Setiap mahasiswa melakukan pewarnaan Ziehl-Neelsen

**Pertunjukan:**

- Sediaan preparat BTA positif
- Sediaan preparat Gram sputum

## MYCOBACTERIUM

Mycobacterium merupakan mikroba tahan asam, serupa dengan Rhodococcus dan Nocardia. Tingkat ketahanan Mycobacteria terhadap asam bervariasi. Mycobacterium ada yang patogen dan ada juga yang tidak patogen.

Berdasarkan kecepatan tumbuh dan jenis pigmen, Mycobacterium dapat dibagi atas:

1. Photochromogen dengan pigmen koloni kuning  
Bakteri golongan ini koloninya akan jika inkubasi dilakukan dengan pencahayaan.  
Termasuk dalam golongan ini adalah *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. simiae*, *M. asiaticum*.
2. Non photochromogen (yang tidak berpigmen)  
Termasuk dalam golongan ini adalah: *M. tuberculosis* complex, *M. terrae*, *M. gastrii*, *M. avium* *M. xenopi* dll.
3. Scotochromogen (pigmen kuning atau orange)  
Bakteri golongan ini koloninya akan berwarna bila inkubasi dilakukan dalam keadaan gelap.  
Termasuk dalam golongan ini adalah *M. szulgai*, *M. flavescens*, *M. thermoresistible*, *M. gordonae* dll.
4. Rapid grower  
*M. flavescens*, *M. Marinum*, *M. thermoresistible*.  
Kebanyakan kuman dari golongan ini tidak patogen pada manusia.

## Kultur dan uji kepekaan *Mycobacterium tuberculosis*

### 1. Bahan pemeriksaan:

#### a. Dahak

- Dahak terbaik untuk kultur adalah dahak pagi
- Dahak sebaiknya diwarnai dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen
- Periksa kekentalan, warna dan volume dahak
- Dahak yang baik warna kuning kehijauan (mukopurulen), kental.
- Volume 3-5 ml.
- Lakukan pewarnaan Gram untuk menilai kualitas dahak.

#### b. Bilasan bronkhus

#### c. Bilasan lambung (biasanya pada TB anak)

#### d. Cairan pleura, cairan peritoneal dan cairan sendi

#### e. Urin

#### f. Biopsi

### 2. Kultur

Sebelum kultur, sputum di homogenisasi terlebih dahulu.

Caranya:

- Tuang sputum sebanyak 10 ml ke dalam tabung sentrifus 50 ml
- Tambahkan Na OH 4% sama banyak, kocok.
- Tambahkan PBS sampai volume 50 ml
- Sentrifus 3000 g selama 15-20 menit
- Biarkan tabung selama 15 menit untuk mengendapkan aerosol
- Buang supernatan ke dalam desinfektan, kemudian tambahkan 1 ml PBS Ke dalam sedimen, kocok sampai homogen.
- Lakukan inokulasi pada tabung Lowenstein-Jensen
- Buat preparat dan warnai dengan Ziehl-Nelseen.

Cara inokulasi:

- Masukkan sebanyak 100 ul sedimen ke dalam media LJ (buat duplo)
- Tutup tabung, jangan terlalu rapat
- Sebar secara merata di atas permukaan media
- Letakkan tabung-tabung pada rak dengan kemiringan 30°C selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 35-37°C.
- Setelah 24 jam, kencangkan tutup botol dan letakkan botol pada rak dengan posisi tegak dan lanjutkan inkubasi
- Amati pertumbuhan *M. tuberculosis* setiap minggu.
- Pengamatan dilakukan sampai 8 minggu.

## Identifikasi *M. tuberculosis*

1. Uji Niasin  
Mycobacterium menghasilkan asam nikotinat.  
Uji ini menggunakan Chloramin T dan KCN  
Hasil:  
Positif → warna kuning  
Negatif → tidak berwarna
2. Uji Katalasa tahan panas  
*M. tuberculosis* lainnya kehilangan aktivitas katalasa jika dipanaskan sampai 68°C.  
Suspensi bakteri dipanaskan pada suhu 68°C pada penangas air selama 20 menit.  
Kemudian tambahkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% + Tween-80.  
Hasil:  
Positif → terbentuk gelembung udara  
Negatif → tidak ada gelembung
3. Uji Nitrat  
Spesies Mycobacterium mempunyai kemampuan berbeda dalam mereduksi nitrat.  
*M. tuberculosis* merupakan spesies terkuat dalam mereduksi nitrat dibandingkan Mycobacterium lainnya.  
Uji nitrat dalam bentuk komersial telah tersedia berupa secarik kertas.
4. Uji Paranitro-Benzoic acid (PNB)  
*M. tuberculosis* akan dihambat oleh PNB.

## UJI KEPEKAAN *M. tuberculosis* CARA PROPORSI

Bahan :

Media Lowenstein-Jensen (LJ) yang mengandung Obat Anti Tuberkulosis (OAT) dengan konsentrasi sebagai berikut:

- a. Isoniazid (INH) : 0.2 µg/ml
- b. Streptomycin : 4 µg/ml
- c. Rifampicin : 40 µg/ml
- d. Ethambutol : 2 µg/ml

Cara kerja:

1. Siapkan suspensi kuman dengan konsentrasi 1 mg/ml atau Mc Farland 0.5-1.0
2. Buat pengenceran  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$  dari suspensi kuman kuman tersebut sebagai berikut:
  - a. Sediakan 5 buah tabung reaksi steril
  - b. Masing-masing isi dengan 4.5 ml aquades steril
  - c. Ambil 0.5 ml suspensi kuman konsentrasi 1 mg/ml masukkan ke tabung I, kocok, kemudian pindahkan 0.5 ml dari tabung I masukkan ke tabung II, 0.5 ml dari



tabung II masukkan ke tabung III, 0.5 ml dari tabung III ke tabung IV, 0.5 ml dari tabung IV ke tabung V, sehingga di dapat serial pengenceran sbb:

tabung I :  $10^{-1}$   
 tabung II :  $10^{-2}$   
 tabung III :  $10^{-3}$   
 tabung IV :  $10^{-4}$   
 tabung V :  $10^{-5}$

3. Inokulasikan pengenceran kuman  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$  masing-masing sebanyak 100 ul ke tabung LJ tanpa OAT dan ke tabung LJ dengan OAT (lakukan duplo).
4. Inkubasi dengan cara sebagai berikut:  
 Masukkan botol-botol tersebut dengan posisi horizontal dengan sudut kemiringan  $30^\circ$  dalam inkubator pada suhu  $37^\circ \text{C}$  selama satu malam dengan tutup longgar.  
 Setelah inkubasi 1 malam, kemudian rapatkan tutup botol dan letakkan botol dengan posisi tegak.
5. Pembacaan pertumbuhan koloni dilakukan pada hari ke 28 dan 42.
6. Tabel pembacaan :

| Pembacaan      | Pencatatan            |
|----------------|-----------------------|
| > 500 koloni   | 4 + (konfluen)        |
| 200-500 koloni | 3 + (hampir konfluen) |
| 100-200 koloni | 2 +                   |
| 20-100 koloni  | Tulis jumlah koloni   |
| 1- 19 koloni   | Tulis jumlah koloni   |
| Tidak tumbuh   | Negatif               |

Perhitungan penetapan resistensi:

Jumlah koloni yang terdapat pada media yang mengandung obat menandakan jumlah kuman yang resisten. Dengan membagi jumlah koloni pada media yang mengandung obat dengan jumlah koloni pada media yang bebas obat menghasilkan proporsi kuman yang resisten.

Jika proporsi yang resisten terhadap obat tertentu **dibawah 1 %** maka kuman diuji dinyatakan **sensitif** terhadap obat tersebut.

Jika proporsi **minimal 1%** maka kuman dinyatakan **resisten** terhadap obat.

$$\% \text{ resistensi} = \frac{\text{Jumlah koloni pada media dengan obat}}{\text{Jumlah koloni pada media yang bebas obat}} \times 100$$

Contoh: Pembacaan jumlah koloni.

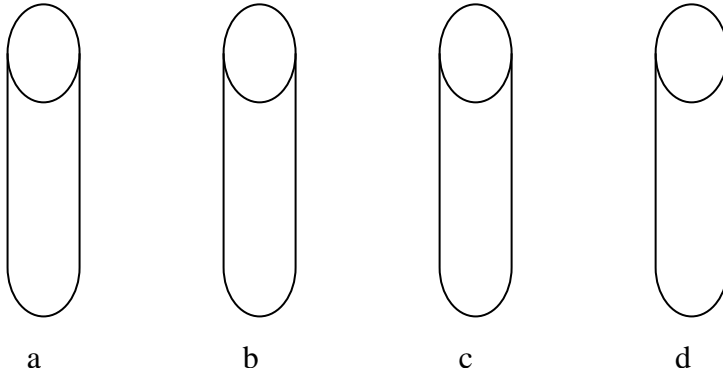
| Suspensi<br>(1 mg/ml-10 <sup>7</sup> /ml)     |                    | Media bebas obat |              | Obat/konsentrasi (mg/L) |         |        |       |
|---|--------------------|------------------|--------------|-------------------------|---------|--------|-------|
| Pengenceran<br>(estimasi jumlah kuman per ml) |                    |                  |              | S (4)                   | H (0.2) | R (40) | E (2) |
| 10 <sup>-1</sup>                              | (10 <sup>6</sup> ) |                  |              |                         |         |        |       |
| 10 <sup>-2</sup>                              | (10 <sup>5</sup> ) |                  |              |                         |         |        |       |
| 10 <sup>-3</sup>                              | (10 <sup>4</sup> ) | 4+, 4+           | 4+<br>(>500) | 1                       | 30      | 8      | 2+    |
| 10 <sup>-4</sup>                              | (10 <sup>3</sup> ) |                  |              |                         |         |        |       |
| 10 <sup>-5</sup>                              | (10 <sup>2</sup> ) | 36, 45*          | 45           | 0                       | 12      | 0      | 20    |
| Proporsi resistensi                           |                    |                  |              | <0.1%                   | 27%     | 0.2%   | 44.4% |
| Hasil dilaporkan                              |                    |                  |              | S                       | R       | S      | R     |

Pertunjukan :

1. Media Lowenstein-Jensen steril
2. Biakan *Mycobacterium tuberculosis* pada Lowenstein-Jensen
3. Biakan *Mycobacterium* sp. (non tuberculosis) pada Lowenstein-Jensen
4. Contoh sputum
5. Preparat Gram sputum (menilai kualitas sputum)
6. Preparat BTA sputum
7. Uji Niasin (positif/negatif)
8. Uji Katalasa tahan panas
9. Uji Nitrat (positif/negatif)
10. Uji Paranitro-benzoic acid (PNB)
11. Uji kepekaan *M. tbc* cara proporsi.

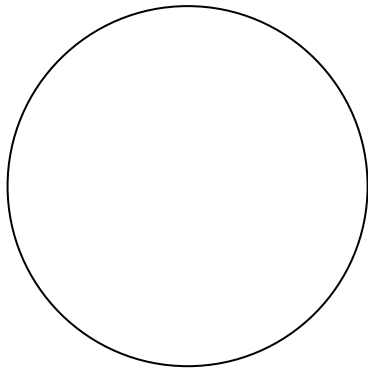
Gambar:

1. Media Lowenstein-Jensen dan biakan Mycobacterium pada LJ

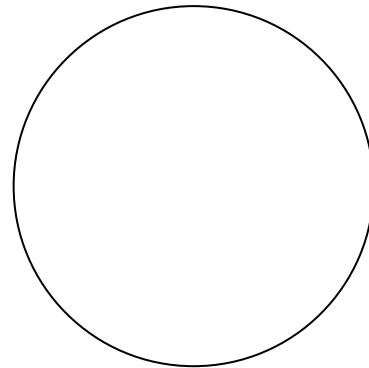


- a. ....
- b. ....
- c. ....
- d. ....

2. Pewarnaan tahan asam sputum

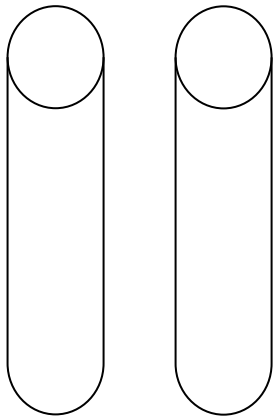


3. Pewarnaan Gram sputum

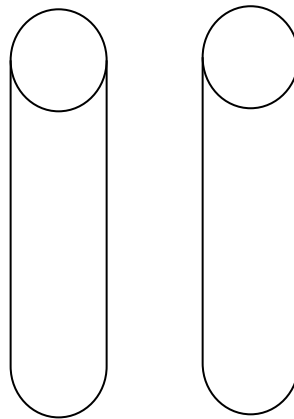


### 3. Contoh kualitas sputum

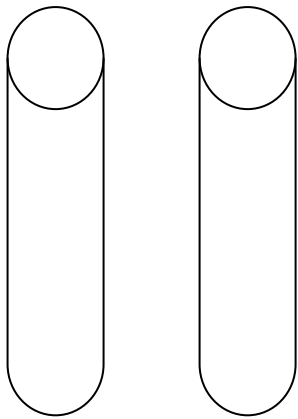
#### 4. Uji Niasin



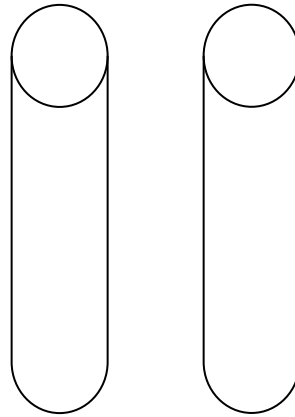
#### 5. Uji PNB



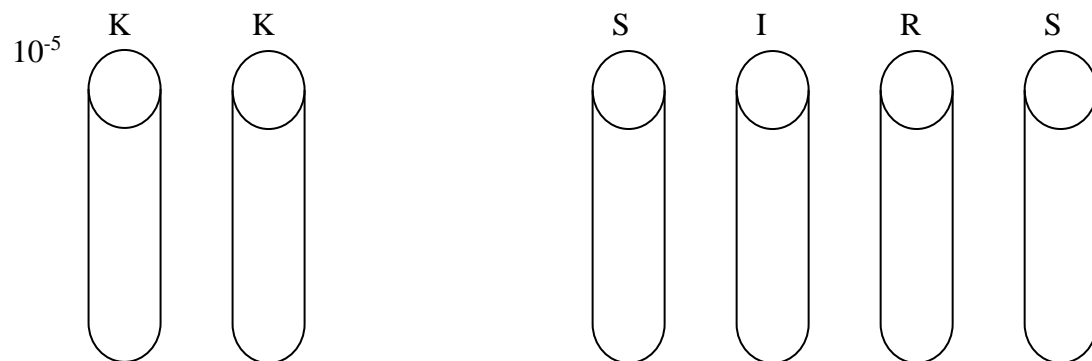
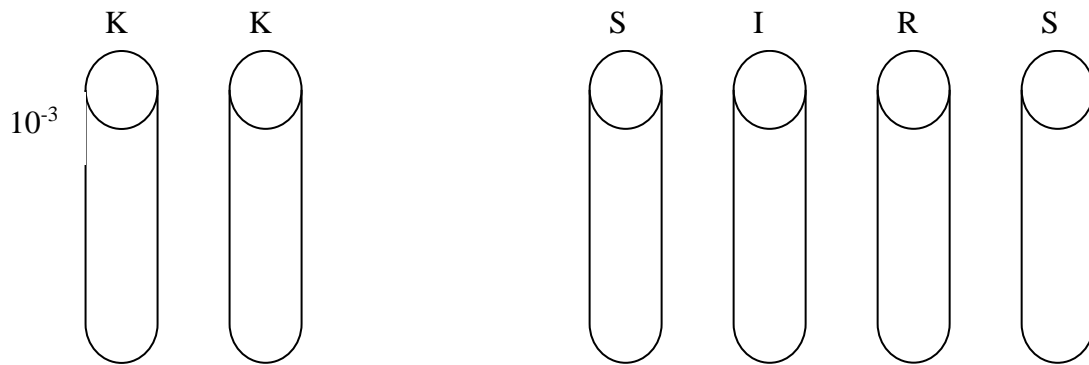
6. Uji Katalasa



6. Uji Nitrat



6. Uji kepekaan *Mycobacterium tuberculosis* terhadap OAT



## Familia CORYNEBACTERIACEAE

### Genus *Corynebacterium*

Batang positif Gram, pleomorfik, tidak bergerak, tidak berspora, mempunyai granula metakromatik (Babes Ernst) satu, dua atau lebih dalam satu badan kuman.

Spesies:

1. *Corynebacterium diphtheriae*, patogen karena membentuk eksotoksin
2. *Corynebacterium pseudodiphthericum*, apatogen
3. *Corynebacterium xerosis*, apatogen

### *Corynebacterium diphtheriae*

Penyebab difteria yaitu infeksi akut terutama pada saluran nafas bagian atas. Pemeriksaan mikroskopik dari bahan pemeriksaan dengan pewarnaan Neisser dapat membantu diagnosa sementara infeksi difteri, untuk diagnosa pasti harus dilakukan kultur kuman.

Untuk mengasingkan *Corynebacterium diphtheriae* dari bahan pemeriksaan dapat dibiak pada perbenihan khusus:

1. Agar darah telurit. Pada agar darah telurit koloni berwarna hitam karena adanya reduksi garam natrium telurium.
2. Serum Loffler. Pada serum Loffler koloni berwarna putih..

Identifikasi selanjutnya dengan uji biokimia dengan menggunakan gula glukosa, maltosa dan sakharosa, reduksi nitrat dan gerak.

|                             | Glukosa | Maltosa | Sakharosa | Red. nitrat | Gerak |
|-----------------------------|---------|---------|-----------|-------------|-------|
| <i>C. diphtheriae</i>       | +       | +       | -         | +           | -     |
| <i>C. pseudodiphtheriae</i> | -       | -       | -         | +           | -     |
| <i>C. xerosa</i>            | +       | +       | +         | +           | -     |

Tes virulensi dapat dilakukan dengan cara:

1. In vivo, dengan menyuntikka kuman difteri yang diasingkan dari penderita pada binatang percobaan (marmot). Bila kuman difteri yang disuntikkan adalah toksigenik maka marmot akan mati dalam 2-3 hari.
2. In vitro, tes Elek-Ouchterlony :  
Kertas saring steril (ukuran 1x5 cm) dibasahi dengan antitoksin difteri kemudian diletakkan pada lempeng petri, ke atasnya dituang agar. Kuman yang akan diperiksa ditanam menyilang dengan kertas saring tadi. Inkubasi 2-3 hari, lihat adanya garis presipitasi.

## PEWARNAAN NEISSER

Bahan :

1. Biakan *Corynebacterium diphtheriae*
2. Zat warna ;
  - a. Neisser A
  - b. Neisser B
  - c. Neisser C
3. Air garam faal
4. Gelas alas

Cara kerja:

1. Buat sediaan pada gelas alas, keringkan dan rekatkan.
2. Campurkan 2 bagian Neisser A dengan 1 bagian Neisser B, tuangkan ke preparat, diamkan selama 15 detik.
3. Buang zat warna dari preparat, kemudian tuangkan Neisser C, biarkan 15 detik.
4. Keringkan dengan kertas saring (tanpa dicuci dengan air).

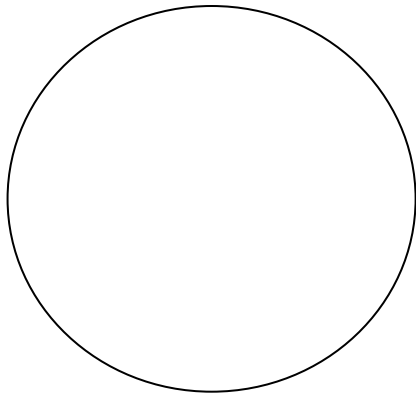
Hasil : Badan kuman berwarna kuning tua/tengguli, granula berwarna ungu tua.

Tugas : Melakukan pewarnaan Neisser.

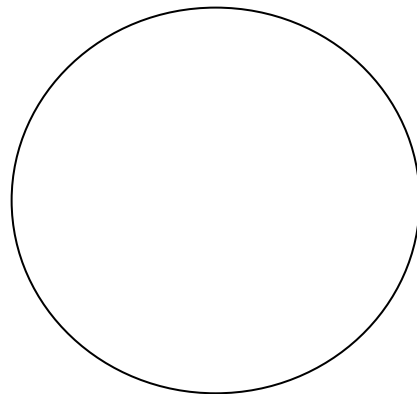
Pertunjukkan:

1. Preparat *Corynebacterium diphtheriae* dengan pewarnaan Neisser.
2. Preparat *Corynebacterium diphtheriae* dengan pewarnaan Gram
3. Perbenihan agar darah telurit
4. Biakan *Corynebacterium* pada agar darah telurit
5. Biakan *Corynebacterium* pada agar darah
6. Uji biokimia *C. diphtheriae*, *C. pseudodiphtheriae* dan *C. xerosa*.
7. Uji Elek-Ouchterlony

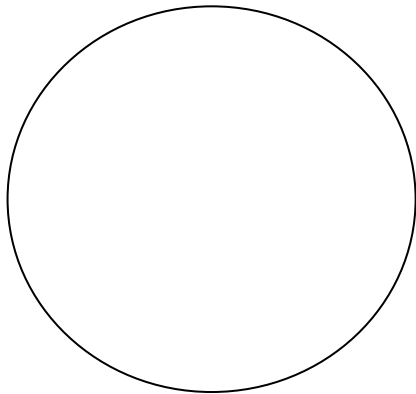
1. Preparat Neisser *C. diphtheriae*



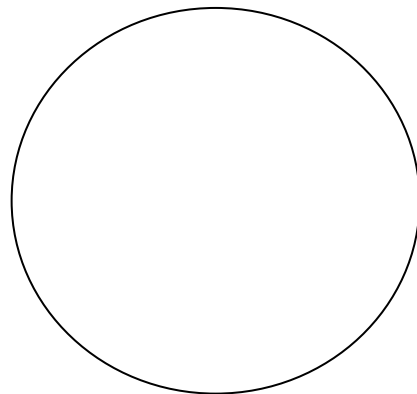
2. Preparat Gram *C. diphtheriae*



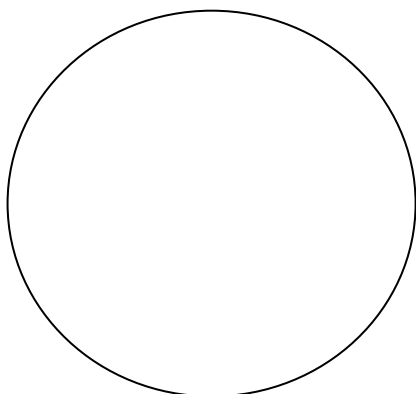
3. Perbenihan agar darah tellurit



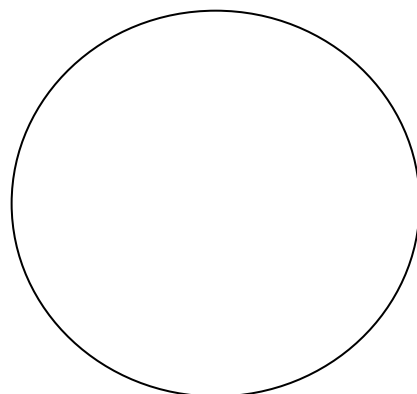
4. Perbenihan agar darah



5. Biakan *C. diphtheriae*  
pada agar darah telurit

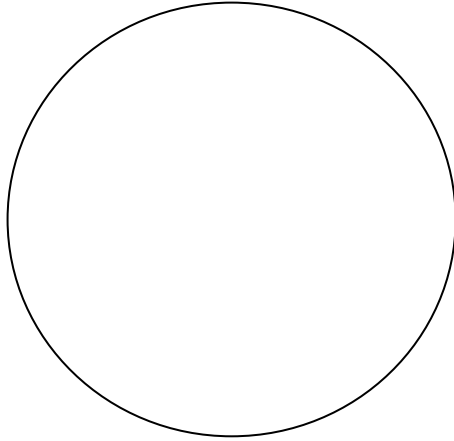


6. Biakan *C.diphtheriae*  
pada agar darah





## 6. Uji Elek-Ouchterlony



## Pemeriksaan Mikrobiologi Sputum dan Usap tenggorok

### Cara pengambilan bahan:

Sputum : dibatukkan dan ditampung dalam wadah steril.

Usap tenggorok : lidah dijulurkan dan ditekan dengan spatel lidah. Usapkan usap kapas pada daerah tonsil dan bagian belakang faring. Hindarkan sentuhan pada lidah dan gigi (untuk mencegah kontaminasi).

### Cara kerja:

1. Bahan pemeriksaan ditanam pada lempeng agar darah, agar Mc Conkey dan agar coklat inkubasi pada suasana CO<sub>2</sub> 5% (untuk *Haemophilus* sp.). Untuk difteri ditanam pada agar darah telurit, inkubasi pada 35°-37° C, selama 24-48 jam.
2. Buat pewarnaan Gram langsung dari bahan pemeriksaan, untuk difteri dengan pewarnaan Neisser.
3. Periksa pertumbuhan pada masing-masing perbenihan, lakukan pewarnaan Gram dan uji biokimia untuk identifikasi.
4. Lakukan uji kepekaan terhadap antibiotika.

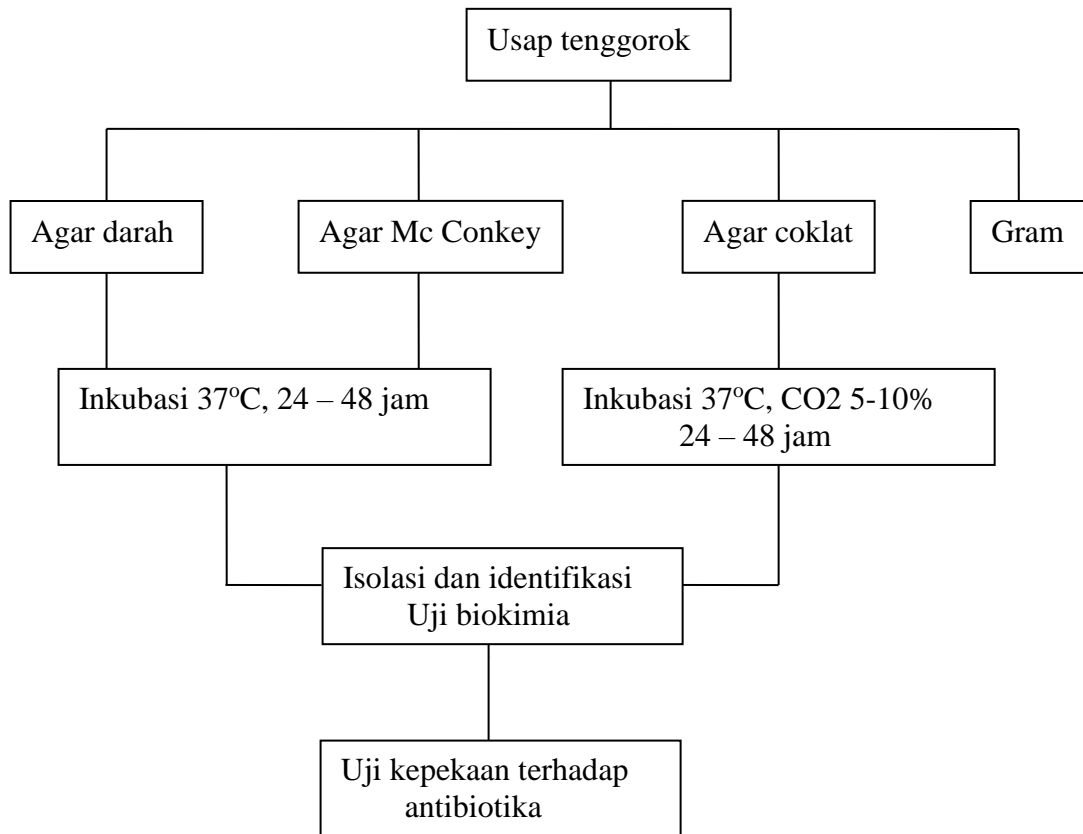
Kuman-kuman yang mungkin ditemukan pada usap tenggorok:

| Flora normal                       | Kuman patogen                                    |
|------------------------------------|--|
| <i>Streptococcus hemolyticus</i>   | <i>Streptococcus</i> Grup A dan B                |
| <i>Streptococcus viridans</i>      | <i>Corynebacterium diphtheriae</i>               |
| <i>Streptococcus anhemolyticus</i> | <i>Neisseria meningitidis</i>                    |
| <i>Haemophilus influenzae</i>      | <i>Haemophilus influenzae</i> (dlm jumlah besar) |
| Diphtheroid                        | <i>Staphylococcus aureus</i>                     |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>    | <i>Streptococcus pneumoniae</i> (dlm jml besar)  |
| Coliform                           | <i>Bordetella pertussis</i>                      |
| <i>Branhamella catarrhalis</i>     | <i>Mycobacterium tuberculosis</i>                |

Bahan : Usap kapas steril  
Lempeng agar darah  
Spatel lidah

Tugas: Melakukan pengambilan usap tenggorok  
Menanam pada lempeng agar darah secara goresan penipisan.  
Membuat pewarnaan Gram langsung dari usap tenggorok dan menggambar hasilnya.

Bagan pemeriksaan usap tenggorok dan sputum:



Contoh biakan sputum dan usap tenggorok: