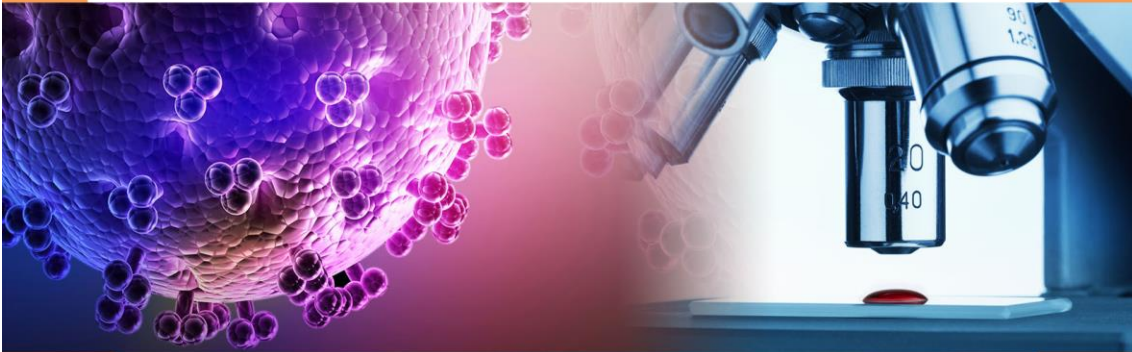




BUKU PENUNTUN PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI BLOK 20, 21 & 22



Penyusun:

dr. Herman Sunaryo, MS

dr. Wani D. Gunardi, SpMK (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
Universitas Kristen Krida Wacana
2019**



Buku Penuntun Praktikum Mikrobiologi

- Blok 20 Ginjal dan Cairan Tubuh**
Blok 21 Metabolik Endokrin II
Blok 22 Saraf dan Perilaku

Penyusun :

Dra. Elisabeth D. Harahap, MS
dr. Herman Sunaryo, MS
Donna Mesina Pasaribu, Ssi., M.Biomed
dr. Wani Devita Gunardi, Sp.MK (K)
dr. Ade Dharmawan, Sp.MK
dr. Nicolas Layanto, Sp.MK

DEPARTEMEN MIKROBIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS KRISTEN KRIDA WACANA
JAKARTA
2019

TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Memakai baju praktikum (jas laboratorium) minimal setinggi lutut dan harus memakai sepatu tertutup.
2. Membawa pensil warna (minimal 12 warna)
3. Membawa buku Penuntun Praktikum Mikrobiologi
4. Dilarang membawa makanan/minuman ke dalam ruang laboratorium
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 obyektif 100x
8. Lampu spritus ditutup kembali bila tidak dipakai.
9. Bila biakan kuman tumpah atau pecah, segera lapor Dosen pembimbing dan bersihkan dengan lisol dan alkohol.
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 penuntun praktikum (hasil pengamatan) kepada dosen untuk ditandatangani.
 - d. membuang sampah pada tempatnya
 - e. mencuci tangan dengan sabun sebelum meninggalkan ruang laboratorium.

Blok 20 Ginjal dan Cairan Tubuh

MIKROBIOLOGI KEDOKTERAN

Blok 20 : Ginjal dan Cairan Tubuh
Praktikum : 1
Topik : Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih
Pengampu : Herman Sunaryo, dr, MS
Elisabeth D. Harahap, Dra, MS
Donna Mesina R.P., S.Si, M. Biomed
Wani D. Gunardi, Dr, dr, Sp.MK (K)
Ade Dharmawan, dr, Sp.MK
Nicolas Layanto, Sp.MK
Waktu : 100 menit

Sasaran Belajar :

1. Mampu memahami berbagai mikroorganisme penyebab infeksi saluran kemih
2. Mampu memahami berbagai cara pengambilan dan pengiriman spesimen urin untuk kultur
3. Mampu memahami prosedur pemeriksaan kultur bakteriologik pada spesimen urin.
4. Mampu menjelaskan interpretasi hasil pemeriksaan kultur urin untuk membedakan kontaminasi, kolonisasi, dan infeksi.

Buku Wajib:

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

Referensi:

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

Ringkasan:

Secara anatomi, sistim traktus urogenitalis terdiri dari bagian atas, yaitu organ ginjal dan ureter serta bagian bawah, yaitu organ vesica urinaria dan uretra. Dalam keadaan normal, urin yang berasal dari vesica urinaria bersifat steril, tetapi pada daerah uretra dan sekitar genital yang kontak dengan dunia luar terdapat kolonisasi bakteri flora normal. Untuk itu pada interpretasi hasil kultur urin harus dibedakan antara kontaminasi, kolonisasi, dan infeksi. Infeksi didefinisikan jika terdapat mikroorganisme dalam saluran kemih dalam jumlah yang signifikan ($>10^5$ CFU/ml urin).

Umumnya bakteri penyebab infeksi saluran kemih adalah:

1. Enterococcus
2. *Streptococcus agalactiae* (Streptococcus grup B)
3. Enterobacteriaceae
4. *Pseudomonas sp.*
5. *Streptococcus pyogenes* (Streptococcus grup A)
6. *Staphylococcus aureus*
7. *Staphylococcus saprophyticus*
8. *Candida sp.*

Self-assesment:

1. Jelaskan pengambilan spesimen urine untuk pemeriksaan mikrobiologi.
2. Jelaskan sifat-sifat bakteri yang dapat menginfeksi saluran kemih.
3. Jelaskan cara isolasi dan identifikasi bakteri yang dapat menginfeksi saluran kemih.
4. Jelaskan uji antibiotik pada bakteri yang dapat menginfeksi saluran kemih.
5. Jelaskan media selektif bakteri yang dapat menginfeksi saluran kemih.

BLOK 20 GINJAL DAN CAIRAN TUBUH

BAKTERI PENYEBAB INFEKSI SALURAN KEMIH

Infeksi saluran kemih biasanya didapat melalui rute ascending dari urethra ke kantung kemih, dan dapat menyebabkan :

- Infeksi primer saluran kemih (uretritis)
- Infeksi kantung kemih (cystitis)
- Infeksi ginjal (pielonefritis)

Bakteri penyebab infeksi saluran kemih:

Bakteri batang negatif Gram yang paling sering menyebabkan infeksi saluran kemih adalah *Escherichia coli*. *Proteus mirabilis* sering berhubungan dengan pembentukan batu, yang disebabkan adanya enzim ureasa yang memecah urea membentuk ammonia sehingga mengakibatkan urin menjadi alkalin. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* dan *Pseudomonas aeruginosa* sering sebagai penyebab infeksi nosokomial atau *Hospital Acquired Infections*.

Di antara bakteri positif Gram, *Staphylococcus saprophyticus* sering menyebabkan infeksi terutama pada wanita muda. *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterococcus* pada penderita di rumah sakit (terutama pada penderita AIDS).

Bila terjadi penyebaran secara hematogen maka spesies lain juga dapat ditemukan seperti: *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Mycobacterium tuberculosis*.

Diagnosa Laboratorium:

Infeksi dapat dibedakan dari kontaminasi melalui biakan atau kultur kuantitatif. Bahan untuk biakan urin adalah urin midstream/ urin porsi tengah, urin kateter dan urin pungsi suprapubik. Pada pengambilan urin porsi tengah, untuk menghindari kontaminasi dari luar, dapat dilakukan pencucian daerah vagina dengan antiseptik (sabun) sebelum bahan diambil.

Spesimen urin untuk pemeriksaan mikrobiologik harus ditampung dalam botol steril bertutup ulir (mencegah kebocoran) dan harus secepat mungkin (kurang dari 2 jam pengambilan) sampai di laboratorium untuk penanaman dan pembiakan selanjutnya.

Pemeriksaan urin secara rutin:

Alat/bahan : Pot urin steril

Sengkelit/ose khusus dengan volume 1 ul/10 ul

Lempeng agar darah

Lempeng agar Mc Conkey

Cara kerja : Tampung urin midstream dalam pot steril

Ambil urin dengan sengkelit khusus (volume 1 ul/10 ul)

Goreskan di seluruh permukaan lempeng agar darah secara merata.

Lakukan juga hal yang sama pada lempeng agar Endo/Mc Conkey.

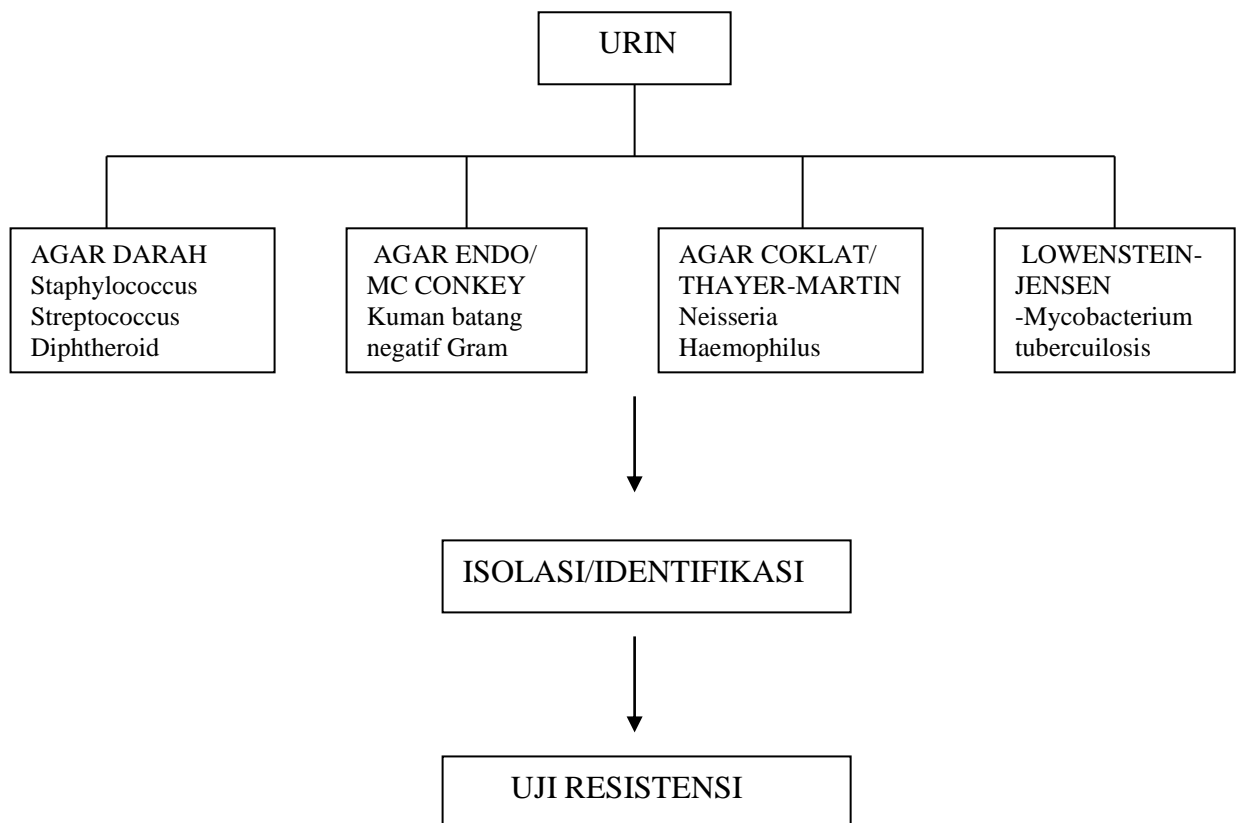
Inkubasi lempeng agar darah dan agar Mc Conkey pada suhu 37°C,

24-48 jam

Baca hasil pertumbuhan, hitung jumlah koloni yang tumbuh.

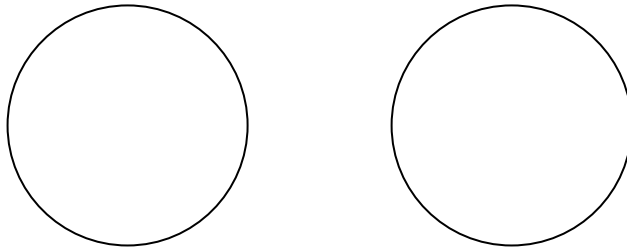
Lakukan isolasi, identifikasi dan uji resistensi.

Bagan pemeriksaan biakan urin :



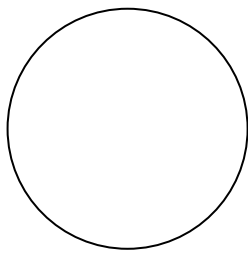
Contoh pemeriksaan urin:

Hari I Biakan pada agar darah dan Mc Conkey

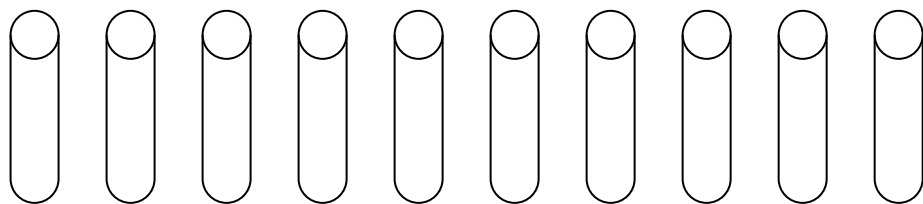


Hitung jumlah koloni :

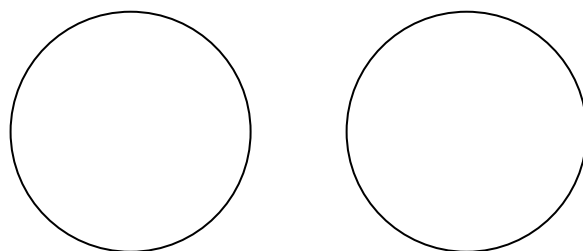
Hari II Pewarnaan Gram dari koloni



Hari III Uji biokimia

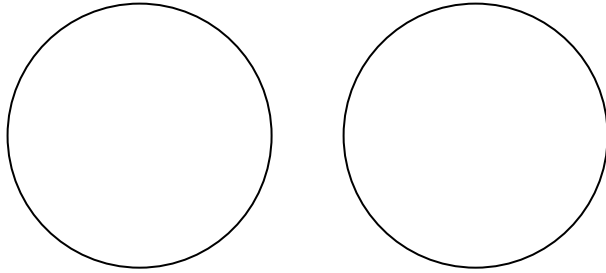


Hari IV Uji Resistensi



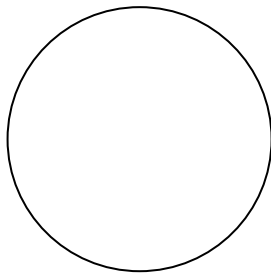
Pertunjukan:

1. Biakan urin pada agar darah dan agar Mc Conkey.



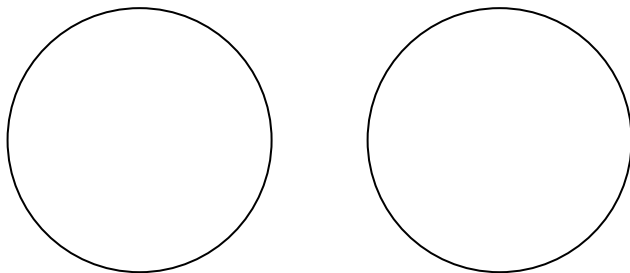
Jumlah bakteri =CFU/ml

2. Pewarnaan Gram



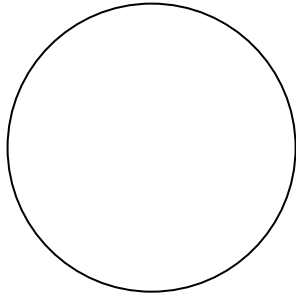
3. Uji biokimia

4. Uji Resistensi

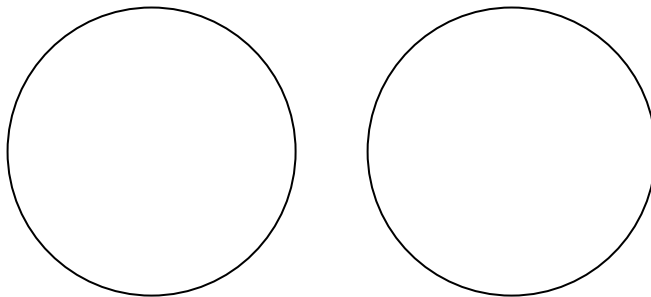


Urin tersangka Gonorrhoeae :

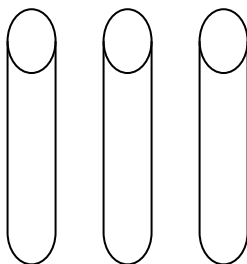
Pewarnaan Gram langsung :



Biakan urin pada agar coklat Thayer-Martin



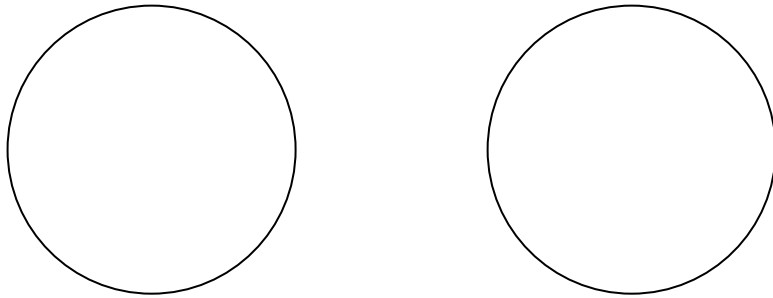
Uji biokimia *Neisseria gonorrhoeae*



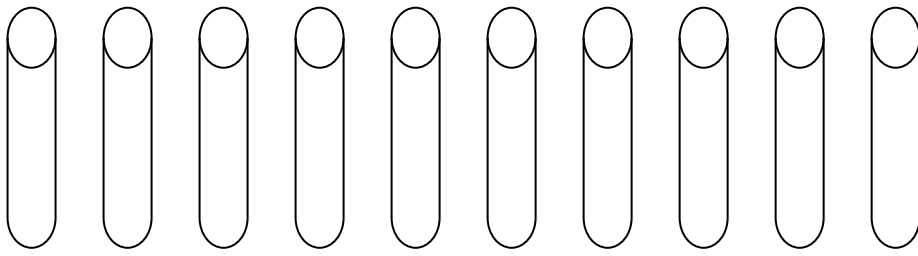
Uji Oksidase

Contoh2 biakan urin pada agar darah dan agar Mc Conkey dan uji biokimia:

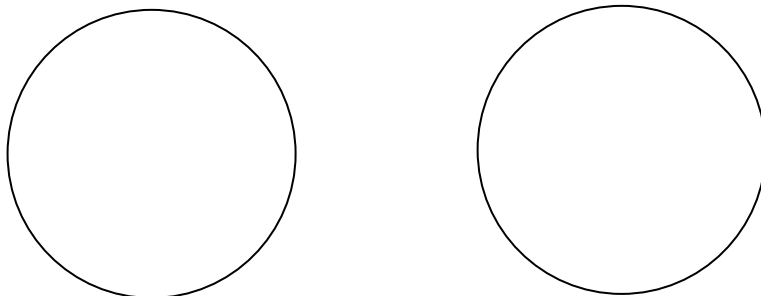
1. Koloni Proteus sp.



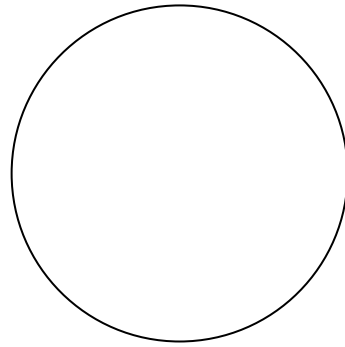
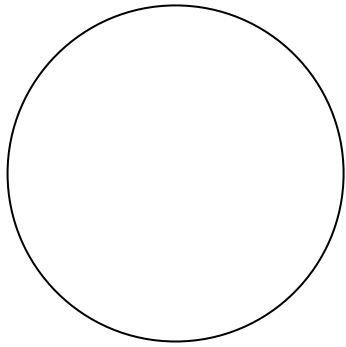
Uji biokimia Proteus sp.



2. Biakan urin *supra pubic puncture* pada agar darah dan Mc Conkey



Beda antara *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*.
(Uji cakram Novobiocin)



MIKROBIOLOGI KEDOKTERAN

Blok 21 : Metabolisme dan Endokrin
Praktikum : 2
Topik : Bakteri Anaerob dan Penyebab Ulcus
Pengampu : Herman Sunaryo, dr, MS
Elisabeth D. Harahap, Dra, MS
Donna Mesina R.P., S.Si, M. Biomed
Wani D. Gunardi, Dr, dr, SpMK (K)
Ade Dharmawan, dr, SpMK
Nicolas Layanto, dr, SpMK
Waktu : 100 menit

Sasaran Belajar :

Sasaran Belajar:

1. Mampu memahami sifat-sifat bakteri anaerob
2. Mampu memahami cara pengambilan dan pengiriman spesimen bakteri anaerob
3. Memahami cara isolasi dan identifikasi bakteri anaerob

Buku Wajib:

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

Referensi:

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

Ringkasan:

Bakteri anaerob tersebar luas di alam dan beberapa merupakan flora normal dalam tubuh manusia yaitu di kulit, di mulut dan saluran cerna. Untuk pertumbuhannya bakteri anaerob memerlukan suasana bebas oksigen yang dapat dilakukan dengan menggunakan sungkup anaerob.

Self-assesment:

1. Jelaskan pengambilan spesimen bakteri anerob.
2. Jelaskan cara pengiriman sample bakteri anaerob
3. Jelaskan sifat-sifat bakteri anerob.
4. Jelaskan cara isolasi bakteri anerob.
5. Jelaskan identifikasi bakteri anerob.

BLOK 21 METABOLISME DAN ENDOKRIN

BAKTERI ANAEROB DAN PENYEBAB ULCUS DIABETIKUM

Bakteri anaerob tersebar luas di alam, merupakan flora normal tubuh manusia, terdapat di kulit, di mulut dan saluran cerna. Infeksi anaerob sering merupakan infeksi campuran yaitu bakteri anaerob, fakultatif dan aerob.

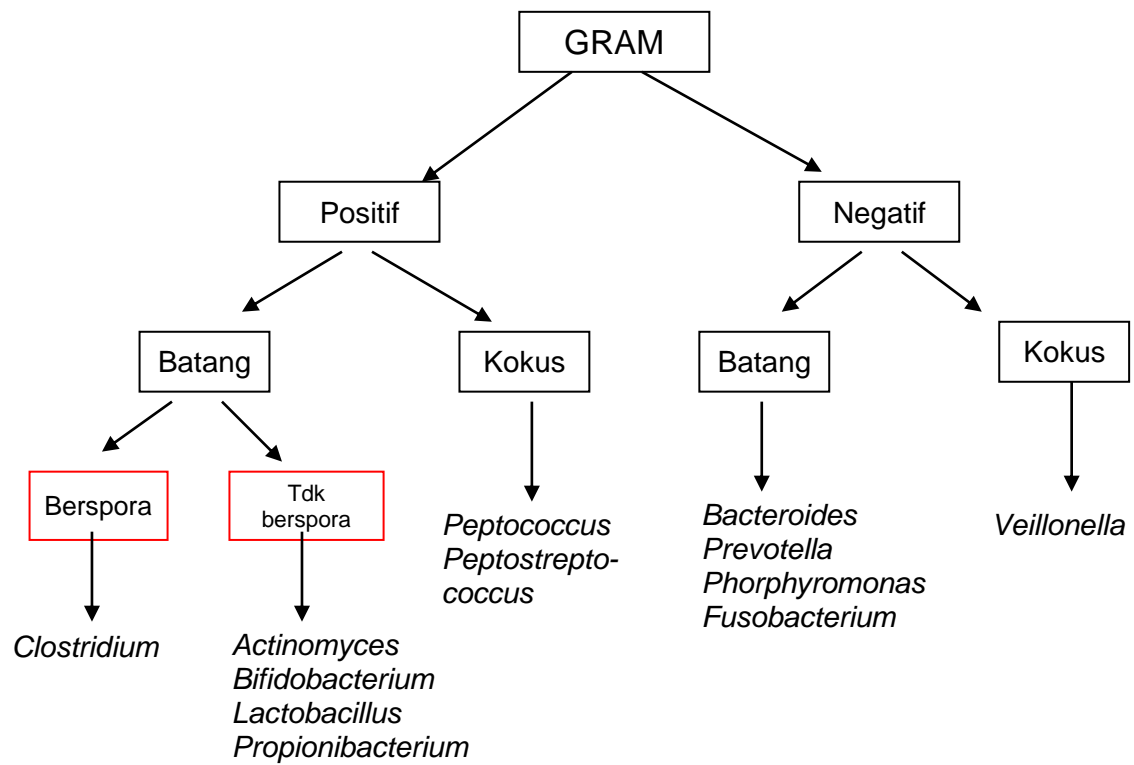
Pengambilan sampel spesimen pus pada ulkus harus dilakukan secara aseptis antisepsis dengan cara aspirasi menggunakan spuit untuk menghindari kontaminasi flora normal kulit.

Pengiriman spesimen untuk kultur anaerob harus dipastikan dalam suasana anaerob. Untuk pertumbuhannya bakteri anaerob memerlukan suasana bebas oksigen, yang dapat dilakukan dengan menggunakan sungkup anaerob. Identifikasi bakteri anaerob dilakukan dengan uji biokimia.

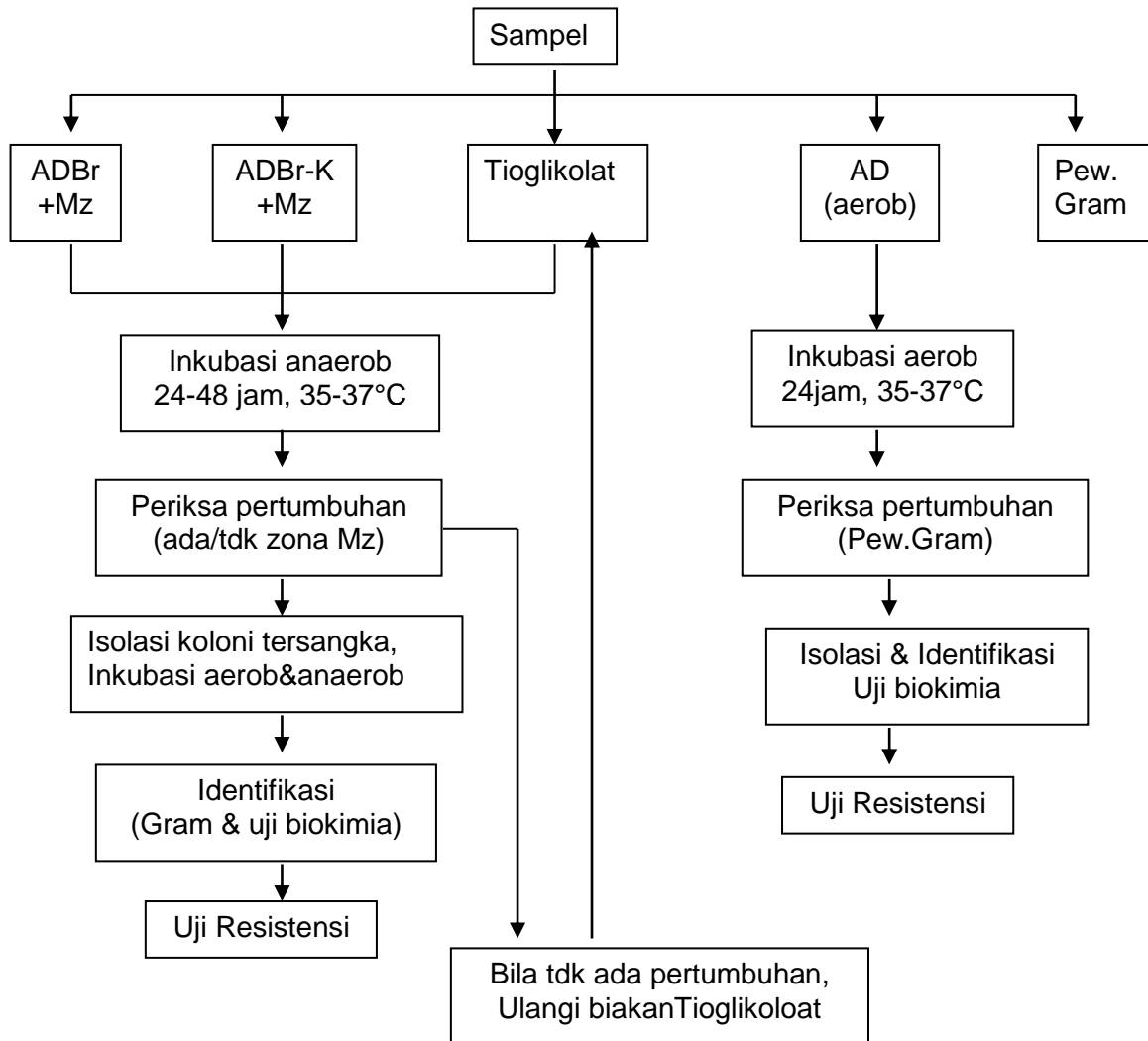
Bacteroides fragilis grup dapat tumbuh pada empedu 20%, sedangkan batang negative Gram anaerob lainnya dihambat. *Prevotella melaninogenica* (d/h *Bacteroides melaninogenicus*) berpigmen coklat sampai hitam dan berfluoresensi merah bata di bawah ultraviolet gelombang panjang.

Clostridium perfringens meragi karbohidrat dan membentuk gas, pada agar darah membentuk zona hemolisa bertingkat.

Klassifikasi bakteri anaerob berdasarkan pewarnaan Gram



Bagan pemeriksaan bakteri aerob dan anaerob:



Keterangan:

AD = Agar Darah
ADBr = Agar Darah Brucella
ADBr-K = Agar Darah Brucella Kanamisin 75ug/ml
Mz = Metronidazole 5 ug

Uji Biokimia Bacteroides sp.

Species	Esculin	Gluk.	Malt	Lakt	Sakh.	Empedu	Indol
<i>B. fragilis</i>	+	+	+	+	+	+	-/+
<i>B. melaninogenicus*</i>	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-
<i>B. oralis</i>	+	+	+	+	+	-	-
<i>B. capillosus</i>	+	+	-	-	-	+	-
<i>B. preaeuctus</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>B. corrodens*</i>	-	-	-	-	-	+	-

Keterangan:

B. melaninogenica (d/h) → Prevotella melaninogenica
Koloni coklat sampai hitam, berfluoresensi.

B. corrodens → Membentuk “pitting” pada agar

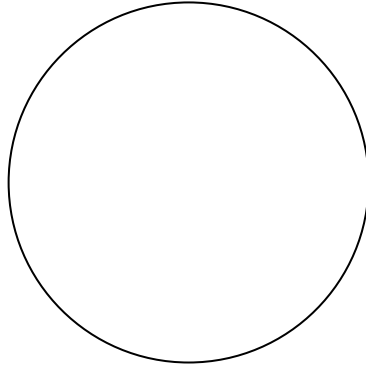
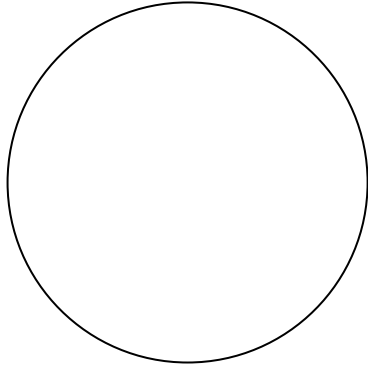
Uji Biokimia Clostridium sp.

Species	G	M.	L	S	Gel	Ind	Protei nasa	Lesitin asa	Lipa sa
<i>C. perfringens</i> (A-E)	+	+	+	+	+	-	-	+	-
<i>C. difficile</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. botulinum</i> (A,B,F)	+	+	-	+	+	-	+	-	+
(C,D,E)	+	+	-	+/-	+	-	-	-	+
<i>C. sporogenes</i>	+	+	-	-	+	-	+	+	-
<i>C. tetani</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-

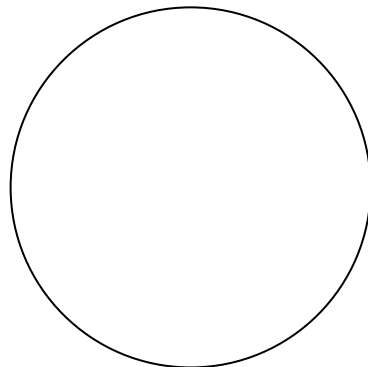
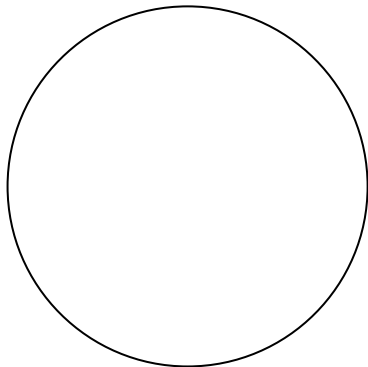
Pertunjukan:

1. Biakan Bacteroides fragillis pada ADBr & ADBrK
2. Biakan Prevotella melaninogenica pada ADBr & ADBrK
3. Uji biokimia B. fragilis
4. Uji biokimia P. melaninogenica
5. Biakan Clostridium perfringens pada agar darah
6. Uji biokimia Clostridium perfringens
7. “Stormy fermentation” C. perfringens
8. Tahap pemeriksaan pus untuk aerob dan anaerob
9. Uji resistensi
10. Reaksi Nagler

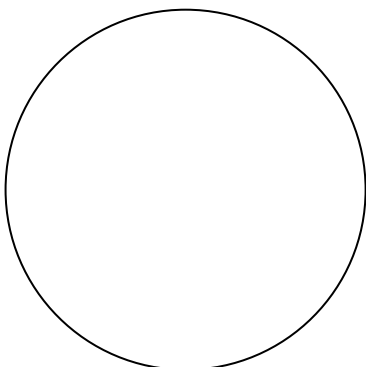
1. Biakan *Bacteroides fragilis* pada ADBr dan ADBrK



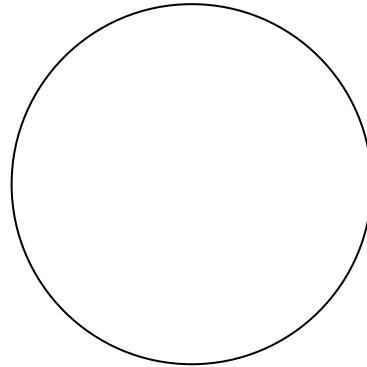
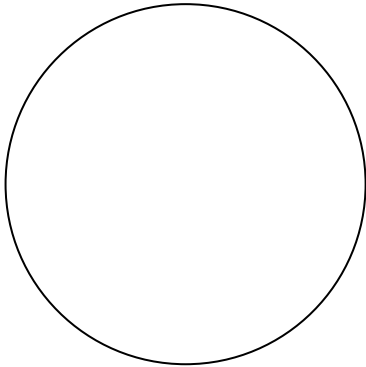
2. Biakan *Prevotella melaninogenica* pada ADBr dan ADBrK



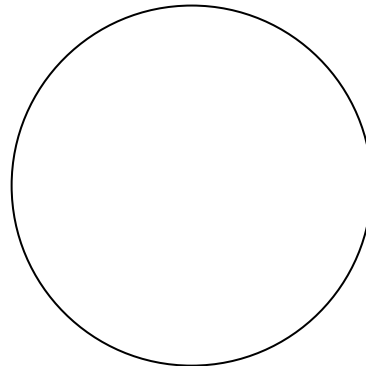
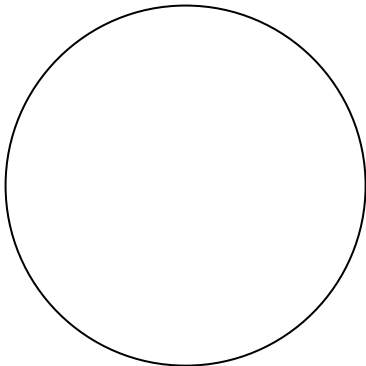
3. Biakan *Clostridium perfringens* pada agar darah



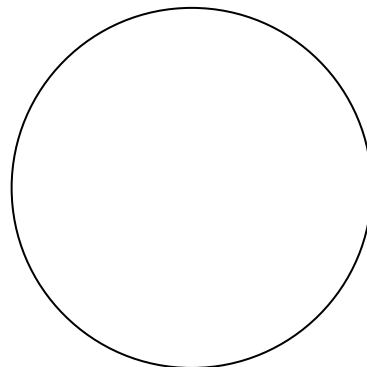
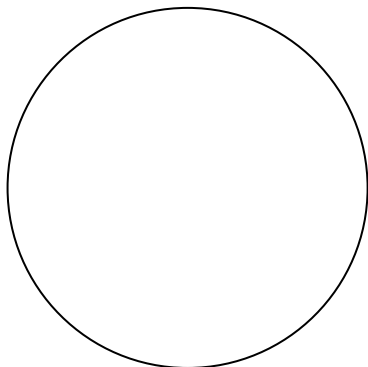
3. Pewarnaan Gram *Bacteroides fragilis* dan *Prevotella melaninogenica*



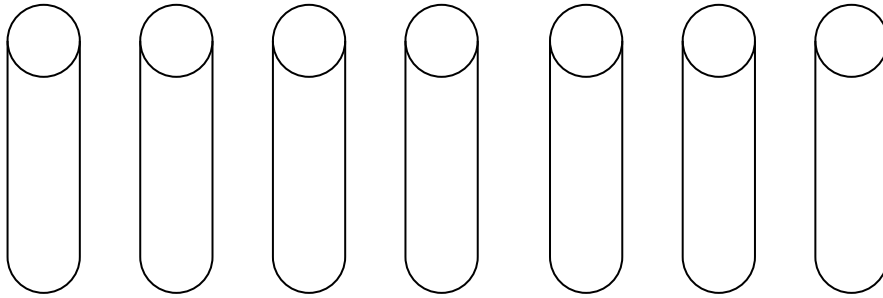
4. Pewarnaan Gram *Peptococcus sp.* dan *Peptostreptococcus sp.*



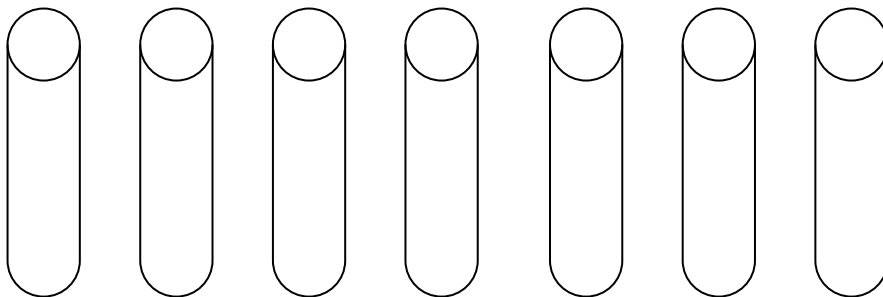
4. Pewarnaan Gram *Clostridium perfringens* dan *Clostridium tetani*



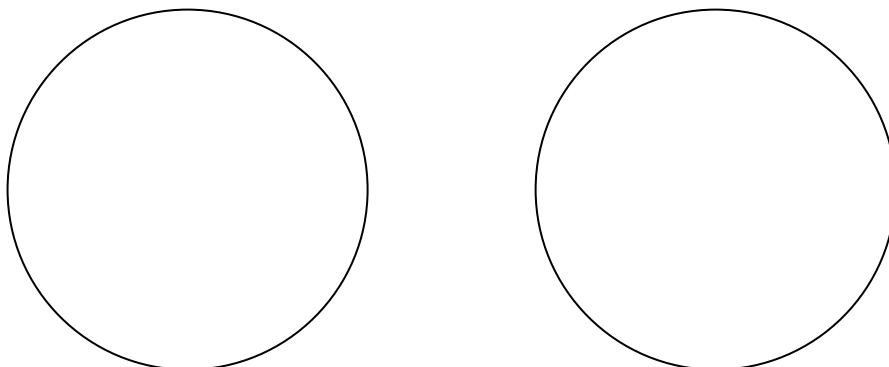
5. Uji Biokimia *Bacteroides fragilis*



6. Uji Biokimia *Clostridium perfringens*



7. Uji enzim Lesitinasa dan Lipasa pada agar kuning telur (*Egg Yolk Agar*)



8. Tahap pemeriksaan aerob dan anaerob:

MIKROBIOLOGI KEDOKTERAN

Blok 22 : Neurologi dan Perilaku
Praktikum : 3
Topik : Bakteri Penyebab Meningitis dan Ensefalitis
Pengampu : Herman Sunaryo, dr, MS
Eisabeth D. Harahap, Dra, MS
Donna Mesina R.P., S.Si, M. Biomed
Wani D. Gunardi, Dr, dr, Sp.MK (K)
Ade Dharmawan, dr, Sp.MK
Nicolas Layanto, dr, Sp.MK
Waktu : 100 menit

Sasaran Belajar :

1. Mampu memahami bakteri dan virus penyebab infeksi pada susunan saraf pusat.
2. Mampu memahami sifat-sifat bakteri penyebab meningitis dan ensefalitis
3. Mampu memahami cara pengiriman sampel untuk kultur bakteri penyebab infeksi susunan saraf pusat.
4. Mampu memahami cara isolasi dan identifikasi bakteri penyebab infeksi susunan saraf pusat.
5. Mampu memahami cara melakukan uji resistensi terhadap bakteri penyebab infeksi susunan saraf pusat.

Buku Wajib:

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

Referensi:

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

Ringkasan:

Infeksi pada susunan saraf pusat dapat disebabkan oleh bakteri, virus dan jamur.

Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi susunan saraf pusat di antaranya adalah *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Treponema pallidum*, *Listeria monocytogenes* dan golongan *Enterobacteriaceae*

Virus yang dapat menyebabkan infeksi pada susunan saraf pusat diantaranya *Herpes virus*, *Epstein-Barr virus*, *Cytomegalovirus*, *Encephalitis virus*.

Self-assesment:

1. Jelaskan bakteri dan virus penyebab infeksi pada susunan saraf pusat.
2. Jelaskan sifat-sifat bakteri penyebab meningitis dan ensefalitis
3. Jelaskan cara pengiriman sampel untuk kultur bakteri penyebab infeksi susunan saraf pusat.
4. Jelaskan cara isolasi dan identifikasi bakteri penyebab infeksi susunan saraf pusat.

BLOK 22 NEUROLOGI DAN PERILAKU

MIKROORGANISME PENYEBAB MENINGITIS dan ENSEFALITIS

Infeksi pada susunan saraf pusat dapat disebabkan oleh bakteri, virus dan jamur. Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi susunan saraf pusat diantaranya *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Treponema pallidum* *Listeria monocytogenes* dan golongan *Enterobacteriaceae*.

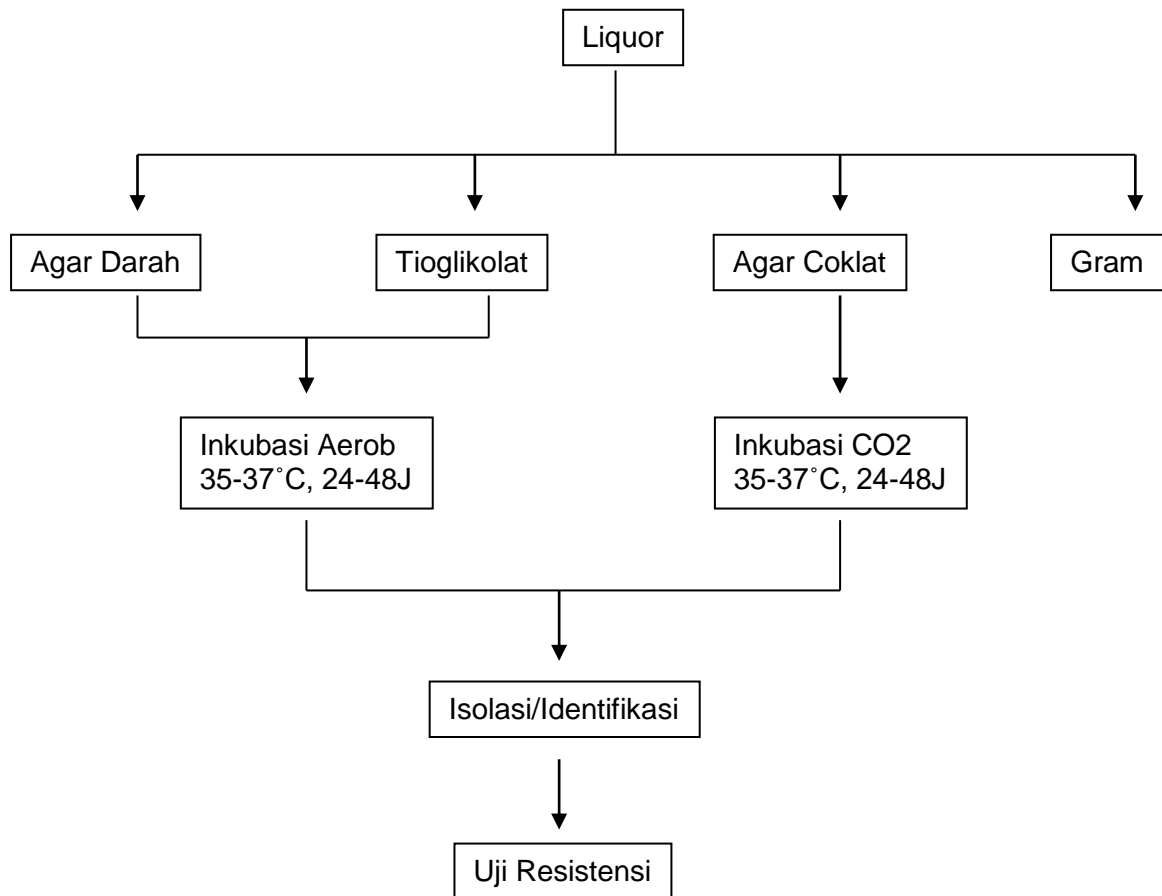
Virus yang dapat menyebabkan infeksi pada susunan saraf pusat diantaranya *Herpes virus*, *Epstein-Barr virus*, *Cytomegalovirus*, *Encephalitis virus*.

Bakteri-bakteri penyebab infeksi susunan saraf pusat adalah :

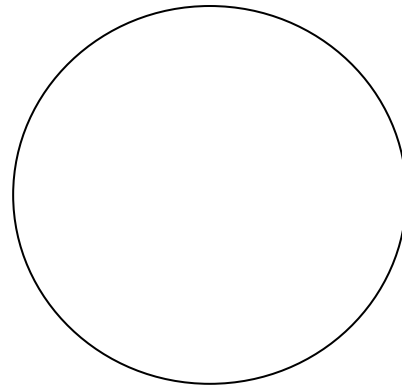
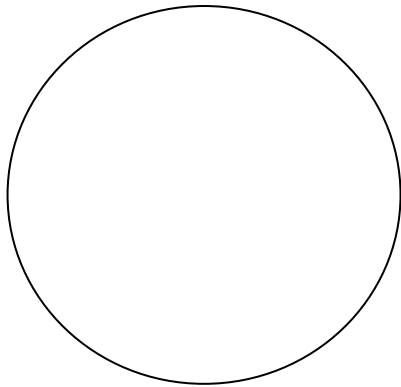
1. *Neisseria meningitidis* berbentuk diplokokus negatif Gram, tumbuh pada agar coklat dalam suasana mikroaerofilik, yang memerlukan CO₂ 10%. Identifikasi dilakukan dengan uji biokimia pada gula CTA (*Cystein Trypticase Agar*).
2. *Streptococcus pneumonia* diplokokus positif Gram berbentuk lancet.
3. *Listeria monocytogenes* berbentuk batang positif Gram tidak berspora.
4. *Haemophilus influenzae* berbentuk kokobasil negatif Gram, memerlukan faktor x (hemin) dan faktor v (NAD) untuk pertumbuhannya.
5. *Treponema pallidum* berbentuk spiral, belum dapat dibiak secara invitro, diagnosa dilakukan secara mikroskopik dan serologi.

Pada kasus infeksi susunan saraf pusat seperti meningitis, spesimen yang digunakan untuk pemeriksaan mikrobiologik adalah cairan serebrospinalis. Pewarnaan Gram cairan serebrospinalis harus dilakukan segera setelah spesimen diterima (cito) untuk memberikan hasil sementara berupa penentuan ada tidaknya infeksi bakteri. Hal ini untuk membantu penatalaksanaan pasien lebih lanjut.

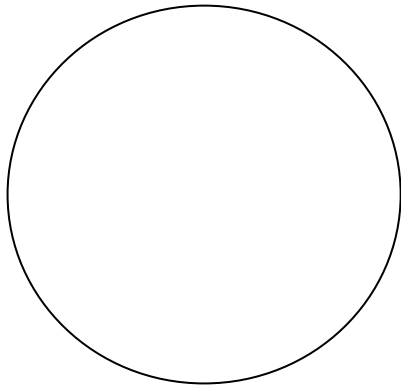
Kultur cairan otak (liquor cerebrospinalis)



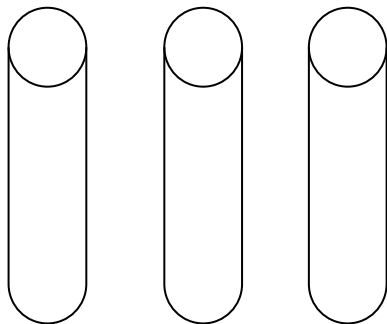
1. Preparat Gram Neisseria.



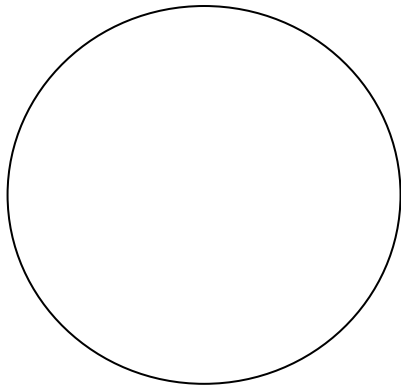
2. Biakan Neisseria meningitidis pada agar coklat



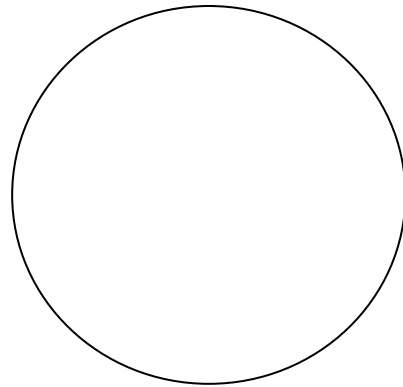
3. Uji biokimia Neisseria meningitidis pada CTA



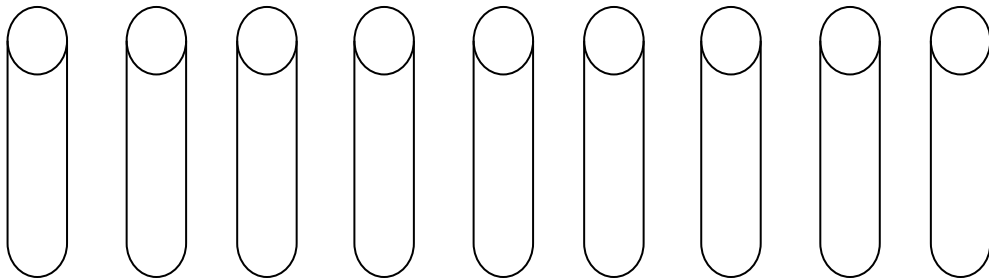
4. Biakan liquor pada agar darah



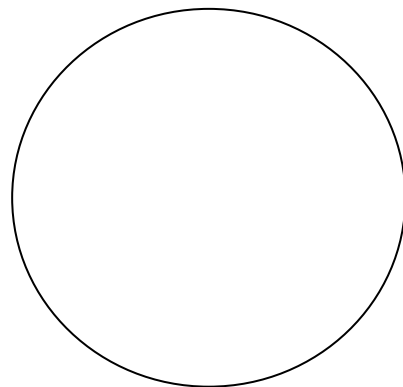
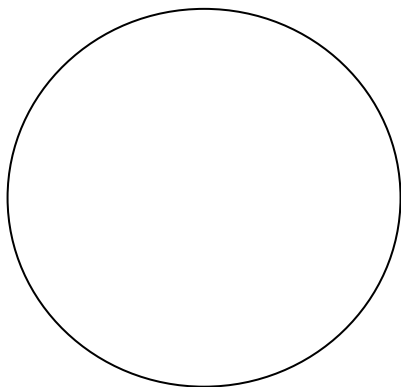
5. Preparat Gram



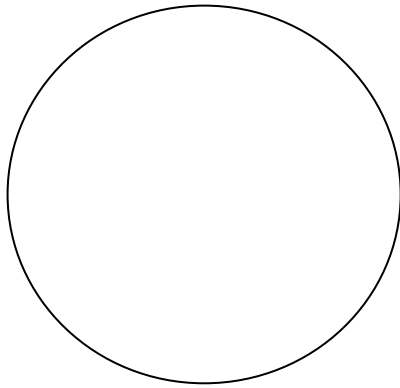
5. Uji biokimia batang negatif Gram



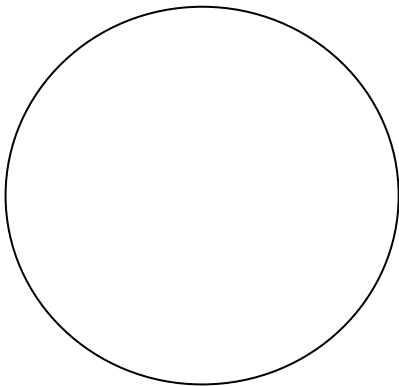
6. Uji Resistensi



6. Biakan Streptococcus pada Agar Darah



7. Preparat Gram



8. Uji biokimia