

TATA TERTIB LABORATORIUM BAKTERIOLOGI

Untuk menghindari kecelakaan kerja, penularan penyakit dan untuk mendapatkan hasil yang maksimal, maka perlu adanya tata tertib selama melakukan praktikum di Laboratorium Bakteriologi, Sebagai berikut:

A. Praktikan

1. Wajib mengenakan jas laboratorium selama praktik di dalam laboratorium Bakteriologi
2. Wajib menggunakan handscoon, terutama saat memegang sampel infeksius
3. Rambut yang panjang **harus** diikat
4. Tidak diperkenankan makan, minum dan merokok di dalam laboratorium
5. Membawa masuk alat tulis secukupnya sesuai yang dibuthkan
6. Tas diletakkan di rak luar laboratorium
7. Sebelum dan sesudah bekerja harus cuci tangan dengan air mengalir dan sabun cair
8. Sebelum dan sesudah bekerja, meja kerja harus dibersihkan dan didesinfektan menggunakan Lysol atau alcohol 70%.

B. Instrumen

1. Peralatan yang digunakan untuk memindah atau menanam biakan atau sampel (misalnya ose), sesudah dan sebelum digunakan harus di sterilkan pada nyala api yang tidak berjelaga (pemijaran) sampai merah membara. Sedangkan peralatan yang lain (misalnya swab, jarum suntik dan sebagainya) dapat direndam didalam desinfektan
2. Peralatan lainnya, seperti mikroskop, meja praktek, BSC harus Selalu bersih dan siap digunakan
3. Peralatan, reagensia, dan media yang sudah selesai digunakan dikembalikan ditempat penyimpanan semula
4. Alas kaki dan jas laboratorium hanya dipakai di dalam laboratorium saja. Saat sudah selesai dan keluar laboratorium, alas kaki dan jas harus dilepas.

C. Lain-lain

1. Sediaan, biakan, kertas, tissue, kapas bekas dan sebagainya yang tidak terpakai lagi dibuang kedalam tempat yang sudah disediakan
2. Setiap kecelakaan kerja di laboratorium, diantaranya biakan tumpah, kebakaran, tertusuk, harus segera diatasi dengan cara yang sudah diketahui, serta harus segera lapor kepada dosen pembimbing atau asisten dosen, terutama jika tidak dapat mengatasi.
3. Pengisian spirtus kedalam lampu spirtus **jangan** didekat api. Jika akan menyakanan api lampu spirtus, sumbu dalam nya jangan dibuka atau ditarik
4. Tempat kerja sebelum dan sesudah praktikum harus dibersihkan dan dirapikan

5. Masing-masing mahasiswa yang melakukan praktikum, **WAJIB** punya *log book* sendiri-sendiri untuk mencatat tiap tahapan praktikum yang dikerjakan

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI

Staphylococcus aureus

MORFOLOGI MIKROSKOPIS:

Kokus kecil-kecil, Gram positif, berkelompok/bergerombol yang tidak teratur seperti anggur (biasanya disebut staphylococcus), tidak berspora, tidak berkapsul, tidak bergerak.

MORFOLOGI MAKROSKOPIS:

Ciri koloni yang tumbuh pada berbagai media Sebagai berikut:

Jenis Media	Ciri Makroskopis dan fisiologis
Blood Agar Plate (BAP)	Koloni sedang-besar, bulat, putih-kuning, smooth, menghemolisa atau tidak menghemolisa sel darah merah, cembung, tepi rata, konsistensi opaque
Manitol Salt Agar (MSA)	Koloni kecil-sedang, bulat, kuning yang dilingkari oleh zona yang berwarna kuning juga, smooth, cembung, tepi rata, konsistensi opaque
Loeffler serum	Koloni kecil, bulat, putih-kuning, cembung, tepi rata, konsistensi opaque, setelah beberapa hari perbenihannya menjadi hancur oleh pengaruh proteolitik ferment
Nutrient Agar	Koloni kecil-sedang, bulat, putih-kuning, smooth, cembung, konsistensi opaque, tumbuh cukup subur.
Fermentasi: Mannitol Glukose OF medium	+ (baik diinkubasi pada aerob ataupun anaerob) Fermentative
Uji pendukung lain: Katalase test Oxidase test Koagulase Staphylase test D-Nase test	+ - + + +

SPECIMEN :

Darah, CSF, sputum, pus dari luka, kerokan kulit, akar rambut, ear swab, eye swab, pharyng swab, vagina swab, makanan dan minuman.

PROSEDUR :

Hari 1

Spesimen ditanam pada media NaCl broth → inkubasi 37°C 24 jam

Hari 2

Dari media pemupuk NaCl broth disubkultur pada media BAP dan MSA → inkubasi 37°C 24 jam

Hari 3

Koloni tersangka *Staphylococcus* dari BAP dan MSA dibuat preparat dan diwarnai Gram → jika betul *Staphylococcus* Gram positif, selanjutnya ditanam pada media Loeffler serum, Nutrient Agar, D-Nase agar, dan gula mannitol → semuanya inkubasi 37°C 24 jam

Dar Media MSA → diambil koloninya untuk dilakukan uji katalase dan Koagulase

Uji Katalase metode slide test

Diteteskan 1 tetes H₂O₂ 10% pada object glass → ditambahkan koloni bakteri yang akan diuji secukupnya → dicampur hingga menjadi emulsi yang baik → hasil positif jika terbentuk gelembung udara

Uji Koagulase metode slide test

1 tetes plasma kelinci pada object glass → ditambahkan koloni bakteri secukupnya → dicampur hingga menjadi emulsi yang baik → hasil positif jika terjadi flokulasi plasma.

Catatan : plasma kelinci diperoleh dengan citrate oxalate atau EDTA

Hari 4

Diamati dan dicatat pertumbuhan pada media:

- Loeffler serum : berwarna kuning
- Nutrient Agar : diamati pigmen yang dibentuk oleh koloni yang tumbuh test
- D-Nase agar : dikerjakan D-Nase test

Selanjutnya hasil pengamatan media dan tes-tes tersebut dibandingkan dengan sifat-sifat mikroskopis, makroskopis dan fisiologisnya pada tabel, untuk kemudian ditentukan diagnosanya.

CATATAN :

Untuk mendapatkan hasil isolasi dan diagnose yang lebih memuaskan, sebaiknya specimen ditanam terlebih dahulu pada media enrichment, yaitu media NaCl broth atau Salt Meat Broth. Setelah diinkubasi 37°C 24 jam, kemudian ditanam pada media BAP dan MSA, untuk seterusnya dikerjakan seperti tersebut di atas.

PERBEDAAN GENUS-GENUS *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus*

No	Media/Test	<i>Staphylococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Stomatococcus</i>
1	Koloni melekat pada BAP	-	-	+
2	Pertumbuhan pada MSA	+	+	-
3	Pertumbuhan pada suasana anaerob	+	-	±
4	Kapsul dengan india ink	-/+	-	+
5	Pertumbuhan pada inkubasi 45°	+	-	?

PERBEDAAN *Staphylococcus* KOAGULASE NEGATIF

No	<i>Staphylococcus</i>	PYR	UREA	HAEM	FERMENTASI			DISC SENSI		
					MAN	TRE	SUC	NOVO	PB	BAC
1	<i>S. epidermidis</i>	-	+	-/+	-	-	+	S	R	S
2	<i>S. hominis</i>	-	+	-/+	-	-/+	+	S	S	S
3	<i>S. wameri</i>	-	+	-/+	-/+	+	+	S	S	S
4	<i>S. capitis</i>	-	-/+	+	+	-	+	S	S	S
5	<i>S. haemolyticus</i>	+	-	+	-/+	+	+	S	S	R
6	<i>S. saprophyticus</i>	-	+	-	+	+	+	R	S	R/S
7	<i>S. cohnii</i>	-	-	-/+	-/+	+	-	R	S	R/S
8	<i>S. xylosus</i>	-	+	-/+	-/+	+	+	S	S	R/S

Keterangan: PYR = Pyrolonodil arylamidase; HAEM = Haemolysa; MAN = Mannitol;
 TRE = Trehalose; SUC = Sucrose; NOVO = Novobiocin; PB = Polymicin B;
 BAC = Bacitracin

Lembar Kegiatan Praktikum

Tanggal praktikum :
Topik Praktikum : Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli*
Tujuan : untuk mengidentifikasi adanya *Staphylococcus aureus* pada suatu spesimen

Hasil :

