

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

Escherichia coli

MORFOLOGI MIKROSKOPIS:

Batang lurus, Gram negatif, tidak berspora, tidak berkapsul, ada yang motil dan non-motil

MORFOLOGI MAKROSKOPIS:

Mudah tumbuh pada media sederhana yang dipakai sehari-hari pada umumnya. Memfermentasi laktosa (ada juga spesies yang non lactose fermented). Menguraikan glukosa menjadi asam dan gas (aerogenik), tetapi ada juga yang tidak menghasilkan gas (anaerogenik). Ada yang memproduksi H₂S (Hydrogen sulfide). Ciri koloni yang tumbuh pada berbagai media Sebagai berikut:

Jenis Media	Ciri Makroskopis dan fisiologis
Blood Agar Plate (BAP)	Koloni sedang, bulat, abu-abu, smooth, menghemolisa atau tidak menghemolisa sel darah merah, cembung, tepi rata, konsistensi opaque
Mac Conkey Agar	Koloni sedang, bulat, merah bata atau merah tua (fermentasi laktosa positif), metalik, smooth, sedikit cembung, tepi rata, konsistensi semi translucent
Eosin Methylen Blue (EMB)	Koloni sedang, bulat, metallic sheen green-black, cembung, tepi rata, konsistensi opaque
Endo Agar	Koloni besar, bulat, merah-merah tua, smooth, metalik cembung, konsistensi opaque
Violet Red Bile Agar (VRBA)	Koloni sedang, bulat, merah ungu dilingkari oleh zona yang berwarna merah ungu, smooth, cembung, tepi rata, konsistensi opaque
Tergitol-7 Agar	Koloni sedang, bulat, kuning dengan zona kuning terkadang dengan warna coklat kasar (warna karat) ditengahnya, smooth, sedikit cembung, tepi rata, konsistensi opaque
TSIA	Lereng: acid (kuning); Dasar: acid (kuning); gas: positif/negatif; H ₂ S: negatif/positif
SIM	H ₂ S : negatif/positif; Indol : positif Motility : negatif/positif
Simmon's Citrat Agar	Negatif
Fermentasi:	
Glukosa	+g/+
Laktosa	+/-
Mannitol	+
Maltosa	+
Sukrosa	+/-
Sorbitol	+
Arabinosa	+
Glukoce OF	Fermentative

Acetat Agar	+
IMVC	+/+/-/-

Tes-tes kimia yang menunjukkan hasil positif :
 Reduksi nitrat, katalase tes, ONPG tes, Methyl Red Test

Tes-tes kimia yang menunjukkan hasil negatif :
 Malonat broth, phenylalanine deaminase, urease, gelatinase, oksidase, Voges proskauer test.

SPECIMEN :

Feses, rectal swab, darah, urin, pus, secret uretra, sputum, secret vagina, makanan, minuman dan air

PROSEDUR :

Hari 1

Spesimen ditanam pada media Bouillon/NB → inkubasi 37°C 24 jam

Hari 2

Dari media pemupuk Bouillon/NB disubkultur pada media BAP, MC Agar, EMB Agar, Endo Agar, VRBA, Tergiol-7 Agar → inkubasi 37°C 24 jam

Hari 3

Dari media isolasi di atas, koloni yang tersangka *Escherichia coli* di sub kultur pada media TSIA, IMVC, SIM, dan media uji biokimia reaksi lainnya (gula-gula, urea, lysine, dll yang diperlukan) → inkubasi 37°C 24 jam

Hari 4

Dibaca pertumbuhan pada media biokimia reaksi, kemudian dicocokkan dengan ciri fisiologis *Escherichia coli* untuk menentukan diagnosanya. Apabila diperlukan dapat dilanjutkan dengan slide aglutinasi menggunakan antisera coli pathogen dan tes-tes lainnya untuk ETEC dan EHEC. Antisera pathogen diantaranya:

- *E. coli* polyvalent I
- *E. coli* polyvalent II
- *E. coli* pathogen 1-5
- *E. coli* pathogen 6-11

Lembar Kegiatan Praktikum

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

Hasil :

