

## 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

### *Salmonella* sp.

#### MORFOLOGI MIKROSKOPIS:

Batang, Gram negatif, tidak berspora, tidak berkapsul, bergerak aktif dengan flagella peritrik

#### MORFOLOGI MAKROSKOPIS:

Mudah tumbuh pada media biasa, dengan suasana aerob, suhu optimum 36°C, dan tidak memfermentasi laktosa. Ciri koloni yang tumbuh pada berbagai media Sebagai berikut:

Jenis Media	Ciri Makroskopis dan fisiologis
Mac Conkey Agar	Koloni sedang, bulat, tidak berwarna, smooth, cembung, tepi rata, konsistensi translucent
Eosin Methylen Blue (EMB)	Koloni sedang (lebih besar dari pada di MC), bulat, tidak berwarna, smooth, cembung, tepi rata, konsistensi translucent
Salmonella Shigella Agara (SSA)	Koloni kecil-kecil, bulat, tidak berwarna, smooth, cembung, tepi rata, konsistensi translucent
Bismuth Sulfit Agar	Koloni kecil-kecil, bulat, hijau dengan bagian tengah berwarna hitam, zona sekitar koloni berwarna hitam, smooth, metalik, cembung, tepi rata, konsistensi translucent. Terkadang koloni kelihatan hitam saja.
Endo Agar	Koloni kecil-sedang, bulat, tidak berwarna-merah muda, smooth, cembung, konsistensi translucent
Deoxycholate Citrate Agar	Koloni kecil-sedang, bulat, jernih-kelabu terkadang tengahnya berwarna hitam, smooth, cembung, tepi rata, konsistensi semi translucent
Hektoen Enteric Agar	Koloni kecil-sedang, bulat, berwarna hijau-biru dengan atau tanpa warna hitam di tengah koloni, smooth, cembung, tepi rata, konsistensi semi translucent
Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD)	Koloni kecil-sedang, bulat, berwarna merah tengahnya hitam, smooth, cembung, tepi rata, konsistensi semi translucent
TSIA	Lereng : alkali gas : +/- Dasar : asam H <sub>2</sub> S : +/-
SIM	H <sub>2</sub> S : negatif/positif; Indol : negatif Motility : positif (aktif)
Simmon's Citrat Agar	Tumbuh / tidak tumbuh
Fermentasi:	
Glukosa	-
Laktosa	-
Mannitol	-
Maltosa	-
Sukrosa	-

Sorbitol Arabinosa Glukoce OF	+ + Fermentative, g +/-
Reduksi Nitrat	+
Katalase tes	+
Oksidase tes	-
IMVC	-/+/-/-
Malonat broth	-
Phenylalanin Deaminase	-
Urease	-
DNase	-
gelatinase	-
ONPG	-
KCN broth	-

**STRUKTUR ANTIGEN :**

Susunan antigen bakteri golongan *Salmonella* terdiri dari O antigen (ada pada badan bakteri) dan H antigen (ada pada flagel bakteri). H antigen sendiri terdiri dari antigen fase 1 dan 2. Tiap-tiap spesies mempunyai susunan antigen yang berbeda

**SPECIMEN :**

Darah, feses, urin, LCS, makanan, minuman dan air.

**PROSEDUR :**

**SPEKIMEN DARAH**

**Hari 1**

Darah sebanyak 2-3 mL dimasukkan kedalam 10 mL empedu pepton atau media selenit F-broth → campur dengan baik → inkubasi 37°C 24 jam

**Hari 2**

Pertumbuhan di dalam empedu pepton atau media selenite F-broth ditanam pada media MC, EMB, Endo Agar, SSA, BSA, DCA, Hectoen enteric agar, XLD agar → inkubasi 37°C 24 jam.

Penanaman ini diulangi pada hari ke-4 dan ke-7

**Hari 3**

Koloni tersangka pada media isolasi ditanam pada media TSIA, SIM dan media biokimia reaksi → inkubasi 37°C 24 jam

**Hari 4**

Pertumbuhan pada media TSIA, SIM dan biokimia reaksi dicocokkan dengan tabel ciri-ciri biokimia *Salmonella* → yang cocok dengan tabel dikerjakan slide aglutinasi dengan serum polyvalent *Salmonella* → jika positif dilanjutkan dengan serum monovalent *Salmonella*.

## SPESIMEN FESES DAN URIN

### Hari 1

Darah sebanyak 2-3 mL dimasukkan kedalam 10 mL empedu pepton atau media selenit F-broth → campur dengan baik → inkubasi 37°C 24 jam

### Hari 2

Pertumbuhan di dalam empedu pepton atau media selenite F-broth ditanam pada media MC, EMB, Endo Agar, SSA, BSA, DCA, Hectoen enteric agar, XLD agar → inkubasi 37°C 24 jam.

### Hari 3

Koloni tersangka pada media isolasi ditanam pada media TSIA, SIM dan media biokimia reaksi → inkubasi 37°C 24 jam

### Hari 4

Pertumbuhan pada media TSIA, SIM dan biokimia reaksi dicocokkan dengan tabel ciri-ciri biokimia *Salmonella* → yang cocok dengan tabel dikerjakan slide aglutinasi dengan serum polyvalent *Salmonella* → jika positif dilanjutkan dengan serum monovalent *Salmonella*.

## CATATAN

Untuk mendapatkan hasil yang lebih meyakinkan, specimen juga ditanam di dalam media enrichment Selenit broth, selenit cysteine broth atau tetrathionate broth. Setelah diinkubasi 37°C 24 jam ditanam pada media isolasi yang untuk seterusnya dikerjakan seperti tersebut di atas.

## TABEL BIOKIMIA *Salmonella*

### Hasil negatif bisa dijumpai pada :

Fermentasi laktosa, sukrosa, Indol tes, malonat broth, phenylalanine deaminase, urease, DNase, gelatunase, oksidase, ONPG, VP dan KCN broth.

### Hasil positif biasa dijumpai pada :

Fermentasi sorbitol, motility, nitrit tes, katalase tes dan MR.

TABEL PERBEDAAN BIOKIMIA *Salmonella*

No	BR tes	SPA	SPB	STM	SPC	SCS	STY	SET
1	Fermentasi glukosa	+g	+g	+g	+g	+g	+	+g
2	Fermentasi mannitol	+g	+g	+g	+g	+g	+	+g
3	Fermentasi maltose	+g	+g	+g	+g	+g	+	+g
4	Fermentasi dulcitol	(+)	-	-	-	(+)/-	(+)/-	+
5	Fermentasi aranisa	+	+	+	+	-	-	-
6	Fermentasi rhamnosa	+	+	+	+	+	-	+
7	H <sub>2</sub> S	-	+	+	+	+/-	+	+
8	Simmon's Citrat	-	+	+	+	(+)	-	+
9	Arginin dihydrolysa	+	+	+	+	(+)	+/(+)	+
10	Lysin decarboxylase	-	+	+	+	+	+	+
11	Ornithin decarboxylase	+	+	+	+	+	-	+

Keterangan: SPA = *S. paratyphi* A; SPB = *S. paratyphi* B; STM = *S. typhimurium*; SPC = *S. paratyphi* C; SCS = *S. cholerae* suin; STY = *S. typhosa*; SET = *S. enteritidis*; +g = + gas; (+) = + lambat

## Lembar Kegiatan Praktikum

Tanggal praktikum :  
Topik Praktikum : Isolasi dan Identifikasi *Salmonella* sp.  
Tujuan : untuk mengidentifikasi adanya *Salmonella* sp.  
pada suatu spesimen

Hasil :

