

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

UJI PENGARUH ANTIMIKROBA METODE DIFUSI DISK

PENDAHULUAN :

Pemeriksaan pengaruh antimikroba adalah pengukuran kemampuan obat antibiotik atau obat kimia dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri secara *in vitro*.

MEDIA DAN REAGENSIA :

1. Muller Hinton Agar plate:
 - a. Pembuatan media ini disesuaikan dengan petunjuk pada label yang ada pada botol media powder
 - b. Yang perlu diingat, ketebalan media agar dibuat ± 4 mm
 - c. Penyimpanan di lemari es maksimal 1 minggu \rightarrow saat akan digunakan dikeringkan dahulu di dalam incubator pada suhu 37°C selama 30 menit
2. Disk Obat:
 - a. Bisa diperoleh secara komersial dengan diameter dan potensi tertentu
 - b. Disk obat stock disimpan di dalam freezer -20°C . disk obat untuk kerja rutin dapat disimpan di dalam lemari es selama 1 bulan
 - c. Jika akan digunakan, disk obat dikeluarkan dari lemari es, yang ada di dalam cartridge atau di dalam disc dispenser dibiarkan dahulu pada suhu kamar selama ± 1 jam
3. Standard kekeruhan Mc Farland 0.5:

Dibuat dari 0,5 mL 1,175% $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Barium chloride dyhidrate) + 99,5 mL 1% H_2SO_4 \rightarrow standard kekeruhan ini dimasukkan kedalam tabung screw cap atau tabung reaksi seperti yang dipakai untuk membuat suspensi bakteri, ditutup rapat supaya tidak terjadi penguapan. Dapat disimpan di ruang gelap suhu kamar selama 6 (enam) bulan, jika akan digunakan dikocok terlebih dahulu.
4. Swab steril
5. PZ steril

PROSEDUR :

1. Pembuatan suspensi bakteri:

- a. Diambil 1 ujung ose koloni bakteri dari media subkultur \rightarrow disuspensikan kedalam PZ steril dalam tabung reaksi sampai kekeruhannya sama dengan standard McFarland 0.5.
- b. Salah satu cara untuk membandingkannya adalah Sebagai berikut:

Pegang 2 (dua) tabung berhimpitan, satu tabung standard dan satu tabung suspensi bakteri \rightarrow kemudian dilihat dan dibandingkan kekeruhannya dengan latar belakang kertas putih yang diberi garis tebal dengan spidol berwarna. Kalau Kurang keruh ditambah koloni bakteri, sedangkan kalau terlalu keruh ditambah PZ steril lagi.

2. Penanaman pada MHA plate:

- a. Kedalam suspensi bakteri yang sudah distandarisasi kekeruhannya, dicelupkan swab steril \rightarrow tunggu sebentar supaya suspensi bakteri

dapat meresap kedalam swab → swab diangkat dan diperas dengan menekankan pada dinding tabung bagian dalam sambil diputar-putar
b. *Streak* kan pada permukaan MHA plate sampai seluruh permukaan tertutup rapat dengan goresan, biasanya dilakukan 4 kali goresan dan 1 kali putaran di bagian pinggir MHA plate → biarkan di atas meja selama 5-15 menit supaya suspensi bakteri meresap kedalam media MHA

3. Penempatan disk obat:

- a. Penempatan disk obat pada MHA plate yang sudah ditanami bakteri dapat dilakukan secara manual satu per satu dengan menggunakan pinset dengan jarak \pm 15 mm
- b. Cara lain, beberapa disk dapat ditempelkan bersama-sama dengan menggunakan disc dispenser
- c. Dengan menggunakan pinset satu per satu disk obat ditekan sedemikian rupa sehingga terjadi kontak yang baik antara disk obat dengan media agar

4. Inkubasi:

Selesai penempelan disk obat, segera MHA plate diinkubasi pada 35°C 16-18 jam

5. Pembacaan/pengukuran diameter zona hambatan:

Diameter zona hambatan yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambatan yang diukur yaitu daerah jernih sekitar disk obat (tidak ada pertumbuhan bakteri), diukur dari ujung yang satu ke ujung yang lain melalui tengah-tengah disk obat dengan beberapa catatan Sebagai berikut:

- Dengan sulfonamide dan cotrimoxazole, pertumbuhan tipis di atas zona hambatan tidak perlu diperhatikan
- Dengan pertumbuhan *Proteus* sp. yang menjalar (*swarming*) di daerah zona hambatan juga tidak perlu diperhatikan
- Apabila dikerjakan *Staphylococcus* yang memproduksi β -laktamase terhadap penisilin, akan timbul zona hambatan dobek/bertingkat, berapapun ukuran diameter zona hambatannya, harus Selalu dilaporkan **resisten**
- Seperti halnya *Serratia marcescens* terhadap colistin/polimixin B

6. Interpretasi Hasil:

Hasil pengukuran diameter zona hambatan dibandingkan dengan standard untuk memperoleh kepastian laporannya, yaitu Resistensi, Intermediat, Sensitif.

CATATAN:

Untuk bakteri-bakteri tertentu dibutuhkan media dan terkadang dengan cara tersendiri, diantaranya Sebagai berikut:

- a. Untuk *Streptococcus* sp. : media MHA ditambah darah
- b. Untuk *Corynebacterium* dan *Listeria* sp. : media MHA ditambah serum
- c. Untuk *Haemophilus* sp. : media MHA ditambah faktor V dan X
- d. Untuk gonococci dan meningococci : media yang digunakan yaitu Chocolate agar ditambah suplemen penyubur

- e. Untuk *Mycobacterium tuberculosis* : digunakan Lewenstein Jensen dengan dengan dilution method

FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI UKURAN DIAMETER ZONA HAMBATAN

1. Kekeruhan suspense bakteri:

Kurang keruh diameter zona hambatan lebih lebar, terlalu keruh diameter zona hambatan makin sempit berarti R dilaporkan S atau S dilaporkan R.

2. Waktu pengeringan/peresapan suspensi bakteri kedalam MHA:

Tidak boleh lebih dari batas waktu yang diperbolehkan, karena dapat mempersempit diameter zona hambatan, dimana S dilaporkan R

3. Temperatur inkubasi:

Untuk memperoleh pertumbuhan yang optimal, inkubasi dilakukan pada 35°C. Kurang dari 35°C menyebabkan diameter zona hambatan lebih besar, sehingga R dilaporkan S. Ini bisa terjadi pada media plate yang ditumpuk-tumpuk lebih dari 2 plate pada inkubasinya. Plate yang berada di tengah, suhunya Kurang dari 35°C. Inkubasi pada suhu lebih dari 35°C terkadang ada bakteri yang Kurang subur pertumbuhannya, adapula obat yang difusinya Kurang baik

4. Waktu inkubasi:

Hampir semua cara/metode menggunakan waktu inkubasi 16-18 jam. Kurang dari 16 jam pertumbuhan bakteri belum sempurna, sehingga sukar dibaca atau diameter zona hambatan lebih lebar. Lebih dari 18 jam pertumbuhan lebih sempurna sehingga diameter zona hambatan makin sempit

Lembar Kegiatan Praktikum

Tanggal praktikum :
Topik Praktikum : Uji Resistensi Antibiotik Metode Difusi Disk
Tujuan : untuk mengetahui potensi dari obat antibiotik

Hasil :

