



**PENUNTUN PRAKTIKUM
BAKTERIOLOGI III**

DISUSUN OLEH :

**MAULIN INGGRAINI, M.Si
NOOR ANDRYAN ILSAN, S.Pd., M.Si**

**PROGRAM STUDI DIII ANALIS KESEHATAN
STIKes MITRA KELUARGA
BEKASI
2021**

KATA PENGANTAR

Segala Puja dan Puji syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas segala hikmah dan karuniaNya yang telah diberikan kepada tim penyusun buku penuntun praktikum Bakteriologi III. Keahlian dan keterampilan kerja di laboratorium sangat membantu dalam memahami teori yang telah diperoleh di kuliah, sehingga dapat tercipta korelasi yang saling membangun antara teori dengan kenyataan.

Buku penuntun praktikum ini disusun secara sistematis, sehingga memudahkan praktikan dalam melakukan kegiatan praktikum. Harapan kami, buku ini dapat bermanfaat bagi mahasiswa jurusan analis kesehatan serta mahasiswa dari jurusan lain yang melaksanakan praktikum sejenis. Segala kritik dan saran yang bersifat membangun tentang isi buku ini sangat dihargai demi perbaikan kualitas lebih lanjut.

Bekasi, Februari 2021

Tim Penyusun

TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Praktikan **wajib** mengikuti semua kegiatan praktikum, bagi yang tidak bisa hadir karena sakit atau izin harus mengajukan praktikum pengganti
2. Praktikan harus telah mengenakan jas lab dan sepatu saat memasuki laboratorium dan bekerja dengan peralatan di laboratorium untuk menghindari kontaminasi.
3. Praktikan yang datang terlambat lebih dari 20 menit tidak diperkenankan mengikuti praktikum, dan akan mengikuti praktikum susulan sesuai jadwal yang disepakati antara dosen dan mahasiswa terkait.
4. Setelah masuk laboratorium praktikan wajib:
 - a. Mengisi daftar hadir
 - b. Mengumpulkan laporan awal / jurnal
5. Selama praktikum berlangsung, praktikan:
 - a. Wajib mengikuti pengarahan dari asisten atau dosen pengampu
 - b. Tidak diperkenankan keluar-masuk laboratorium, makan dan minum, membawa *handphone*, membuat keributan dan mengenakan perhiasan berlebihan
 - c. Mengikuti kuis yang dapat berupa *pretest* atau *posttest* untuk mengetahui sejauh mana kompetensi yang dicapai.
6. Setelah praktikum selesai, praktikan:
 - a. Membersihkan semua peralatan dan meja praktikum
 - b. Membuat laporan yang dikumpulkan paling lambat 1 minggu setelah praktikum berlangsung
7. Dilarang membuang zat sisa atau habis pakai dan pewarna sisa disembarang tempat. Bahan tersebut harus dibuang di tempat yang telah disediakan oleh asisten.
8. Laporkan segera jika terjadi kecelakaan seperti kebakaran dan ketumpahan kepada asisten/dosen.
9. Apabila praktikan merusak atau memecahkan peralatan laboratorium, **wajib mengganti sesuai dengan spesifikasinya**

10. Pelanggaran dari ketentuan di atas dapat mengakibatkan sanksi akademik (skrosing praktikum, tidak diperkenankan mengikuti ujian, dsb).

11. Penilaian praktikum:

- a. Laporan : 30%
- b. Kuis : 20%
- c. Ujian praktikum : 50%

Praktikan wajib mengikuti ujian praktikum sebanyak 3 kali, penilaian ujian praktikum:

- 1) Keterampilan : 60%
- 2) Konsep : 30%
- 3) Sikap : 10%

12. Aturan-aturan / tata tertib yang belum tercantum akan diputuskan kemudian.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	ii
TATA TERTIB PRAKTIKUM	iii
DAFTAR ISI	v
I. Pemeriksaan Bakteri Penyebab Infeksi Kulit	1
II. Pemeriksaan Bakteri Penyebab Infeksi Gastrointestinal	7
UJIAN PRAKTIKUM I	
III. Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA)	10
IV. Pemeriksaan Bakteri Penyebab Infeksi Urogenital	15
UJIAN PRAKTIKUM II	
V. Nosokomial	21
UJIAN PRAKTIKUM II	
DAFTAR REFERENSI	26

PRAKTIKUM I
PEMERIKSAAN BAKTERI PENYEBAB INFEKSI KULIT

Tanggal Praktikum :

A. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan bakteri penyebab infeksi kulit

B. Dasar Teori

C. Metode Kerja

1. Alat

- Autoklaf
- Mikroskop
- Pipet tetes
- *Scalpel*
- Inkubator
- *Object glass*
- *Cover glass*
- Cawan petri

2. Bahan

- Akuades steril
- Alkohol 70%
- *Carbol Fuchsin*
- *Cotton bud* steril
- Media NB (*Nutrient Broth*)
- Etanol 96%
- *Lugol's Iodine*
- NaCl 0,9%
- Spirtus
- Asam alkohol 3%
- *Methylen blue* 0,3%
- Media MSA (*Mannitol Salt Agar*)
- Safranin
- Kristal Violet

3. Prosedur Kerja

a. Pemeriksaan *Mycobacterium leprae*

- 1) Object glass steril disiapkan dan ditulis identitas pasien
- 2) Permukaan kulit yang akan diambil dibersihkan dengan alkohol 70%
- 3) Jepitlah kulit pada bagian tersebut dengan forcep atau dengan jari tangan untuk menghentikan aliran darah kebagian tersebut
- 4) Dengan pisau kecil steril (pisau celup spiritus kemudian dibakar) kulit disayat kurang lebih 2 mm agar mencapai dermis. Bila terjadi pendarahan, bersihkan dengan kapas
- 5) Keroklah tepi dasar sayatan secukupnya dengan menggunakan punggung *scalpel* untuk mendapatkan seperti bubur jaringan dari dermis dan epidermis atau cairan serosa . Usahakan jangan sampai bercampur darah.

- 6) Ulaskan di atas *object glass* dengan suatu gerakan sirkuler, sehingga terbentuk apusan / *smear* yang tidak terlalu tebal dan tipis berdiameter 5-7mm
- 7) Diamkan sediaan sampai mengering di tempat yang bebas debu
- 8) Lakukan fiksasi di atas nyala api
- 9) Sediaan yang telah jadi diwarnai dengan pewarnaan Ziehl Neelsen:
 - a) Letakkan sediaan di atas rak pewarnaan dengan apusan menghadap ke atas
 - b) Teteskan *Carbol Fuchsin* sampai menutupi seluruh permukaan sediaan
 - c) Panaskan sediaan secara hati-hati dengan cara melewatkan di atas api selama 3 - 5 menit (jangan sampai mendidih)
 - d) Sediaan dibiarkan hingga dingin selama 5 menit
 - e) Cuci dengan air mengalir.
 - f) Dekolorasi dengan asam alkohol 3% selama 10 – 30 detik, sampai warna merah dari fuchsin hilang
 - g) Cuci dengan air mengalir
 - h) Teteskan larutan methylen blue 0,3% hingga menutupi seluruh sediaan dan biarkan selama 10 - 30 detik atau larutan methylen blue 0,1% selama 1 menit
 - i) Sediaan dicuci dengan air mengalir dan keringkan pada suhu kamar
- 10) Sediaan yang telah kering ditetesi dengan minyak imersi dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x
- 11) Cari adanya bakteri berbentuk batang panjang atau pendek berwarna merah dengan latar belakang biru

b. Pemeriksaan pada luka (*Staphylococcus aureus*)

- 1) Luka dibersihkan dengan NaCl
- 2) Luka di swab dengan menggunakan *cotton bud* steril yang sebelumnya sudah dilembabkan dengan *peptone water* atau akuades steril

- 3) *Cotton bud* dimasukkan ke dalam media NB dan diinkubasi pada suhu kamar selama 2x24 jam
- 4) Ambil suspensi pada median NB dan lakukan pewarnaan Gram:
 - a) Teteskan Kristal Violet sebagai pewarna utama pada kedua preparat, usahakan semua ulasan terwarnai dan tunggu selama ± 1 menit.
 - b) Cuci dengan akuades mengalir
 - c) Teteskan mordant (*lugol's iodine*) lalu tunggu ± 1 menit.
 - d) Cuci dengan akuades mengalir
 - e) Beri larutan pemucat (etanol 96%) setetes demi setetes hingga etanol yang jatuh berwarna jernih. Jangan sampai terlalu banyak (*overdecolorize*).
 - f) Cuci dengan akuades mengalir
 - g) Teteskan *counterstain* (safranin) dan tunggu selama ± 45 detik
 - h) Cuci dengan akuades mengalir
 - i) Keringanginkan preparat, amati di bawah mikroskop
- 5) Ambil 1 ose atau 1 ml sampel dari biakan NB
- 6) Tanam pada media MSA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 2x24 jam

D. Hasil

Gambar	Keterangan

Gambar	Keterangan

E. Kesimpulan

F. Daftar Pustaka

Disetujui oleh :

Tanda Tangan Dosen	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

Catatan : Kelengkapan laporan sesuai dengan yang di praktikumkan.

PRAKTIKUM II
PEMERIKSAAN BAKTERI PENYEBAB INFEKSI GASTROINTESTINAL

Tanggal Praktikum :

A. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan bakteri penyebab infeksi gastrointestinal pada spesimen feses

B. Dasar Teori

C. Metode Kerja

1. Alat

- Mikroskop
- Pipet tetes
- Jarum ose
- *Object glass*
- *Cover glass*
-

2. Bahan

- Akuades steril
- Alkohol 70%
- NaCl 0,9%
- Spirtus

3. Prosedur Kerja

- a. Suspensikan 0,2 g feses ke dalam 5 ml NaCl 0,9%, diamkan hingga partikel – partikel besar mengendap
- b. Buat apusan feses yang tipis di atas *object glass* dengan menggunakan ose steril, buang partikel – partikel yang besar secara hati - hati
- c. Tutup dengan *cover glass*
- d. Amati di bawah mikroskop
- e. *Vibrio cholerae* terlihat sebagai basil yang motil dengan bentuk yang pendek / melengkung / tergulung ke dalam

D. Hasil

Gambar	Keterangan

E. Kesimpulan

F. Daftar Pustaka

Disetujui oleh :

Tanda Tangan Dosen	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

Catatan : Kelengkapan laporan sesuai dengan yang di praktikumkan.

PRAKTIKUM III
PEMERIKSAAN BASIL TAHAN ASAM (BTA)

Tanggal Praktikum :

A. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan BTA pada spesimen sputum

B. Dasar Teori

C. Metode Kerja

1. Alat

- Mikroskop
- Pipet tetes
- Jarum ose
- Wadah bermulut lebar, bertutup ulir
- *Object glass*
- *Cover glass*
- Rak pewarnaan

2. Bahan

- Akuades steril
- Alkohol 70%
- Spirtus
- *Carbol Fuchsin*
- Asam alkohol 3%
- *Methylen blue 0,3%*

3. Prosedur Kerja

a. Pengambilan spesimen

- 1) Spesimen sebaiknya diambil pada pagi hari sehabis bangun tidur
- 2) Pasien diminta untuk mengkonsumsi air putih yang banyak pada malam harinya
- 3) Pengambilan sputum dilakukan sebelum pasien makan, minum dan menyikat gigi
- 4) Sebelum pengambilan sputum, pasien diminta untuk kumur-kumur, melepaskan gigi palsu (jika ada)
- 5) Minta probandus / pasien untuk mengambil nafas dalam kemudian membatukkan dengan kuat dan ditampung di dalam wadah bermulut lebar dan bertutup ulir
- 6) Sputum diambil dari batuk pertama (*first cough*)
- 7) Apabila yang dikeluarkan pasien adalah saliva / air liur, maka minta pasien untuk mengulanginya kembali

b. Pembuatan sediaan

- 1) Siapkan *object glass* dan ose yang bersih dan steril
- 2) Ambil 1 ose sputum yang kental berwarna putih kekuningan atau putih kehijauan, lalu diletakkan pada *object glass*, ratakan

- 3) Sediaan dibiarkan kering pada suhu kamar
- 4) Setelah kering, fiksasi dengan melewati di atas api sebanyak 3x
- 5) Sediaan siap untuk diwarnai

c. Pewarnaan Ziehl Neelsen

- 1) Letakkan sediaan di atas rak pewarnaan dengan apusan menghadap ke atas
- 2) Teteskan *Carbol Fuchsin* sampai menutupi seluruh permukaan sediaan
- 3) Panaskan sediaan secara hati-hati dengan cara melewati di atas api selama 3 - 5 menit (jangan sampai mendidih)
- 4) Sediaan dibiarkan hingga dingin selama 5 menit
- 5) Cuci dengan air mengalir.
- 6) Dekolorasi dengan asam alkohol 3% selama 10 – 30 detik, sampai warna merah dari fuchsin hilang
- 7) Cuci dengan air mengalir
- 8) Teteskan larutan methylen blue 0,3% hingga menutupi seluruh sediaan dan biarkan selama 10 - 30 detik atau larutan methylen blue 0,1% selama 1 menit
- 9) Sediaan dicuci dengan air mengalir dan keringkan pada suhu kamar

d. Pembacaan dan interpretasi hasil

- 1) Sediaan yang sudah kering diperiksa dibawah mikroskop.
- 2) Teteskan satu tetes minyak emersi diatas sediaan, periksa dengan okuler 10x dan objektif 100x.
- 3) Carilah Basil Tahan Asam (BTA) yang berwarna merah dengan latar belakang biru.
- 4) Periksa paling sedikit 100 lapangan pandang dengan cara menggeserkan sediaan dari kiri ke kanan atau dari kanan ke kiri pada garis lurus.

5) Pembacaan hasil dilakukan dengan menggunakan skala *International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases* (IUATLD), sebagai berikut:

- a) Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapangan pandang : Negatif
- b) Ditemukan 1-9 BTA/ 100 lapangan pandang : Ditulis jumlah kuman yang ditemukan.
- c) Ditemukan 10-99 BTA/ 100 lapangan pandang : + (1+)
- d) Ditemukan 1-10 BTA/ 1 lapangan pandang : ++ (2+)
- e) Ditemukan > 10 BTA/ 1 lapangan pandang : +++ (3+)

D. Hasil

Gambar	Keterangan

E. Kesimpulan

F. Daftar Pustaka

Disetujui oleh :

Tanda Tangan Dosen	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

Catatan : Kelengkapan laporan sesuai dengan yang di praktikumkan.

PRAKTIKUM IV
PEMERIKSAAN BAKTERI PENYEBAB INFEKSI UROGENITAL

Tanggal Praktikum :

A. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan bakteri penyebab infeksi urogenital pada spesimen urine dan sekret vagina

B. Dasar Teori

C. Metode Kerja

1. Alat

- Mikroskop
- Tabung *falcon*
- Jarum ose
- Cawan petri
- *Object glass*
- *Cover glass*
- Sentrifuse
- Pipet tetes

2. Bahan

- Akuades steril
- Alkohol 70%
- Spirtus
- NaCl 0,9%
- *Media Mc Conkey*
- Urine pagi *midstream*
- Sekret vagina

3. Prosedur Kerja

a. Sampel urine

1) Pengambilan sampel

- a) Pasien dianjurkan untuk mencuci tangan dengan sabun sampai bersih dan keringkan dengan handuk / tisu
- b) Bersihkan daerah genital dengan air, tidak boleh dengan sabun / antiseptik lainnya
- c) Spesimen urine yang ideal adalah urine pancar tengah (*midstream*), dengan cara buang aliran pertama urine, aliran urine selanjutnya ditampung pada wadah steril, pengumpulan urine selesai sebelum aliran urine habis

2) Pemeriksaam urine

a) Makroskopis urine

- Amati warna, urine normal berwarna kuning / kuning muda / kuning tua
- Amati kejernihan, urine normal jernih, urine tidak normal agak keruh / keruh / sangat keruh
- Cium bau urine, urine normal memiliki bau khas, urine tidak normal tercium bau tertentu misal amis (*diabetic*)

ketoacidosis / DM), bau busuk karena infeksi saluran kemih, bau khas karena makanan, mis: jengkol, pete, obat-obatan

3) Mikroskopis urine

- a) Urine di sentrifuse dengan kecepatan 1500 -2000 rpm selama 5 menit
- b) Supernatan dibuang
- c) Natan diteteskan di atas *object glass* dan tutup dengan *cover glass*
- d) Amati di bawah mikroskop

4) Kultur urine

- a) Natan hasil sentrifuse urine ditanam pada media *Mc Conkey* dan BA
- b) Pembacaan hasil dengan skala deteksi jumlah bermakna kuman patogen (*significant bacteriuria*):
 - Jumlah koloni yang tumbuh $> 10^5$ koloni/ml urine: bakteri yang tumbuh merupakan penyebab ISK
 - Jumlah koloni $< 10^3$ koloni/ml urine: bakteri yang tumbuh kemungkinan besar hanya merupakan kontaminasi flora normal dari muara uretra
 - Jumlah koloni antara $10^3 - 10^5$ koloni/ml urine: kemungkinan kontaminasi belum dapat disingkirkan, sebaiknya dilakukan kultur ulang dengan urine yang baru
 - Apabila ada > 3 jenis bakteri, maka kemungkinan besar urine telah terkontaminasi

b. Sampel sekret vagina

1) Persiapan klien / pasien

- Melakukan *informed consent*
- Menyiapkan tempat tidur ginekologi dan lampu srot
- Menganjurkan klien / pasien untuk membuka pakaian bawah

- Menganjurkan klien / pasien untuk berbaring di tempat tidur ginekologi dengan posisi litotomi
- 2) Pengambilan sekret vagina
- Masukkan spekulum steril dengan hati-hati dan buka
 - Apabila tidak menggunakan spekulum, maka buka labia mayor dengan ibu jari dan jari telunjuk tangan yang tidak dominan
 - Masukkan ujung kapas lidi dan oleskan pada daerah endoserviks, gerakkan lidi melingkar ke kanan diamkan beberapa saat untuk penyerapan
 - Sekret yang didapat dioleskan pada *object glass*
- 3) Pembuatan sediaan
- Preparat difiksasi dan dilakukan pewarnaan Gram
 - Apabila terdapat *Candida albicans*, maka akan terlihat ragi Gram positif berukuran besar, seringkali dengan tunas dan miselium pendek

Apabila terdapat Gonokokus / *Neisseria Gonorrhoeae* akan dijumpai bakteri Gram negatif diplokokus intraseluler

D. Hasil

Gambar	Keterangan

Gambar	Keterangan

E. Kesimpulan

F. Daftar Pustaka

Disetujui oleh :

Tanda Tangan Dosen	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

Catatan : Kelengkapan laporan sesuai dengan yang di praktikumkan.

PRAKTIKUM V

NOSOKOMIAL

Tanggal Praktikum :

A. Tujuan

Mahasiswa mampu mengetahui potensi infeksi nosokomial

B. Dasar Teori

C. Metode Kerja

1. Alat

- Mikroskop
- Cawan petri

2. Bahan

- Akuades steril
- NaCl 0,9%
- Alkohol 70%
- Spirtus
- Media NA
- Media TSA (*Trcptic Soy Agar*)
- Media SSA (*Salmonella Shigella Agar*)
- Media Mac Conkey

3. Prosedur Kerja

a. Swab wastafel di rumah sakit

- 1) Wastafel rumah sakit di swab dengan *cotton bud* steril yang sudah dilembabkan dengan *peptone water* atau akuades steril
- 2) Cotton bud dimasukkan ke dalam akuades steril 9 ml dan lakukan pengenceran bertingkat sampai 10^{-3}
- 3) Dua pengenceran terakhir diambil sebanyak 0,1 ml untuk ditanam secara *spread plate* pada medium NA, SSA dan *Mac Conkey*
- 4) Inkubasi pada suhu kamar selama 2x24 jam
- 5) Amati jumlah dan keanekaragaman koloni

b. Sampel udara di rumah sakit

- 1) Media NA dan TSA pada cawan petri diletakkan di ruangan yang akan diperiksa
- 2) Bukalah tutup cawan petri selama 10 – 15 menit, kemudian tutup kembali
- 3) Inkubasi pada suhu kamar selama 2x24 jam
- 4) Amati jumlah dan keanekaragaman koloni

D. Hasil

Gambar	Keterangan

Gambar	Keterangan

E. Kesimpulan

F. Daftar Pustaka

Disetujui oleh :

Tanda Tangan Dosen	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

Catatan : Kelengkapan laporan sesuai dengan yang di praktikumkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Cappuccino, J. G., and N. Sherman. 2019. Manual Laboratorium Mikrobiologi Edisi 8. EGC, Jakarta.
- Chairlan dan E. Lestari. 2011. Pedoman Teknik Dasar untuk Laboratorium Kesehatan Edisi 2. EGC, Jakarta
- Elliot T., T. Worthington, H. Osman, M.Gill. 2013. Mikrobiologi Kedokteran dan Infeksi. EGC, Jakarta.
- Irianto, K. 2014. Bakteriologi, Mikologi dan Virologi. Alfabeta, Bandung.
- Irianto, K. 2013. Mikrobiologi Medis. Alfabeta, Bandung.
- Misnadiarly dan H. Djajaningrat. 2014. Mikrobiologi untuk Klinik dan Laboratorium. Rineka Cipta, Jakarta.
- Prescott, L. M. 2017. Microbiology 10th Edition. McGraw-Hill Companies.
- Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2010. Mikrobiologi Kedokteran. Binarupa Aksara, Jakarta.
- Tortora, G. J., B. R. Funke, C. L. Case. 2016. Microbiology an Introduction 12th edition. United States Amarica.
- Willey, J. M., L. M. Sherwood, C. J. Woolverton. 2009. Prescott's Principles of Microbiology. McGraw-Hill Companies.