



BAKTERIOLOGI UNTUK MAHASISWA KESEHATAN

Apriani, S.Si., M.Si., Ni Wayan Desi Bintari, S.Si.,
M.Si, Noor Andryan Ihsan, Ph.D., Febry Istyanto, S.K.M., M.K.M.,
Rochmanah Suhartati, M.Si., Ratih Kartika Dewi, M. Biomed,
Zuraida, S.K.M., M.K.M, Herlina, M.Kes., Maulin Ingraini, S.Si., M.Si.,
Seftiwan Pratami, S.Si., M.Si, Jumriah Nur, S.Si., M.Si.,
Doni Setiawan, M. Biotck, Dian Rachma Wijayanti, M.Sc,
Wulan Fitriani Safari, S.Pd., M.Si

BAKTERIOLOGI UNTUK MAHASISWA KESEHATAN

Apriani, S.Si., M.Si.
Ni Wayan Desi Bintari, S.Si., M.Si.
Noor Andryan Ilsan, Ph.D.
Febry Istyanto, S.K.M., M.K.M.
Rochmanah Suhartati, M.Si.
Ratih Kartika Dewi, M. Biomed.
Zuraida, S.K.M., M.K.M.
Herlina, M.Kes.
Maulin Inggraini, S.Si., M.Si.
Seftiwan Pratami, S.Si., M.Si.
Jumriah Nur, S.Si., M.Si.
Doni Setiawan, M. Biotek.
Dian Rachma Wijayanti, M.Sc.
Wulan Fitriani Safari, S.Pd., M.Si.



BAKTERIOLOGI UNTUK MAHASISWA KESEHATAN

Penulis:

Apriani, S.Si., M. Si., Ni Wayan Desi Bintari, S.Si., M. Si., Noor Andryan Ilsan, Ph.D., Febry Istyanto, S.K.M., M.K.M., Rochmanah Suhartati, M.Si., Ratih Kartika Dewi, M. Biomed., Zuraida, S.K.M., M.K.M., Herlina, M.Kes, Maulin Inggraini, S.Si., M.Si, Seftiwan Pratami Djasfar, S.Si., M.Si, Jumriah Nur, S.Si., M.Si., Doni Setiawan, M. Biotek, **Dian Rachma Wijayanti, M.Sc, Wulan Fitriani Safari, S.Pd., M.Si.**

ISBN: 978-602-71107-6-2

Tebal: x + 244 hlm., 21 x 15 cm

Editor: **Apriani, S.Si., M. Si.**

Penata Letak: **B. Achmad Elfatih**

Penata Sampul: **Echa Elsyah**

Penerbit:

PT. MASAGENA MANDIRI MEDICA

Perumahan Griya Rumah Emas P 24

Jalan Poros Paccellekang, Gowa-Makassar

Sulawesi Selatan, 90562 Indonesia

Telp. 0411-210685, HP/WA 08999991135

Email: mmmpublishing@gmail.com

ANGGOTA IKAPI: No. 020/SSL/2014

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Dilarang memperbanyak isi buku ini dalam bentuk dan dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur senantiasa terhaturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya sehingga Program Penulisan Book Chapter Nasional ini dapat direalisasikan sesuai harapan.

Buku yang berjudul “Bakteriologi Untuk Mahasiswa Kesehatan” ini disusun berdasarkan bidang kepakaran para penulis. Oleh karena itu, buku ini hadir sebagai salah satu buku yang dapat dijadikan rujukan-referensi. Buku ini terdiri atas beberapa bab dengan penyusunan secara tersistematis dan runtut.

Penulisan buku ini atas dasar pemikiran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, kami mengucapkan terima kasih kepada semua tim yang berpartisipasi sehingga buku ini dapat terbit. Pertama, kepada Koordinator Bidang Publikasi Ilmiah, Echa Progres: Lembaga Pengembangan Profesionalisme SDM, atas ide cemerlangnya mengadakan program penulisan buku ini secara nasional. Kedua, kepada editor yang secara maksimal berusaha menyempurnakan isi buku ini dari sisi teknis penulisan. Ketiga, terkhusus kepada para penulis yang telah menuangkan gagasan-gagasannya dalam buku ini.

Kami dari tim pun menyadari bahwa penulisan buku ini masih memiliki banyak kekurangan sebagai bukti keterbatasan semua tim yang berpartisipasi. Oleh karena itu, kami berharap dari pihak manapun kiranya dapat berkontribusi memberikan masukan yang konstruktif untuk pengembangan dan perbaikan atas segala kekurangan dalam buku ini.

Pada akhirnya, kami pun berharap semoga kehadiran buku ini memberi banyak manfaat kepada masyarakat luas, menambah khazanah ilmu pengetahuan, khususnya menjadi jariah bagi semua tim. Amin.

Jakarta, Maret 2023

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii

BAB 1 MORFOLOGI, STRUKTUR DAN FISILOGI

BAKTERI	1
A. Ragam Bentuk Morfologi Bakteri	1
B. Struktur Bakteri	6
C. Sifat, Karakter Fisiologi Bakteri	14
Daftar Pustaka	18
Tentang Penulis	20

BAB 2 PERTUMBUHAN DAN REPRODUKSI BAKTERI

.....	21
A. Pertumbuhan dan Reproduksi Bakteri	21
B. Pertumbuhan dalam Biak Statik	23
C. Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan	
D. Bakteri	25
E. Media Kultur	31
Daftar Pustaka	34
Tentang Penulis	36

BAB 3 GENETIKA DAN METABOLISME BAKTERI

.....	37
A. Pendahuluan	37
B. Perbedaan Genom Prokariot dengan Eukariot	38
C. Replikasi Kromosom Bakteri	39
D. Plasmid	41
E. Efek Plasmid Terhadap Metabolisme <i>Escherichia</i>	

<i>coli</i>	42
Daftar Pustaka	44
Tentang Penulis	46
BAB 4 MIKROFLORA NORMAL	47
A. Pendahuluan	47
B. Mikroflora Normal Pada Bagian Tubuh	49
C. Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Keberadaan Mikroflora Normal	54
D. Kesimpulan.....	59
Daftar Pustaka	60
Tentang Penulis	68
BAB 5 BAKTERI PATOGEN GRAM (+) KOKUS	69
A. Pendahuluan	69
B. Morfologi	70
C. Perbedaan Karakteristik	72
D. Penyakit.....	74
E. Diagnosis laboratorium	75
Daftar Pustaka	79
Tentang Penulis	81
BAB 6 BAKTERI PATOGEN GRAM (+) BATANG	82
A. <i>Clostridium tetani</i>	82
B. <i>Clostridium botulinum</i>	85
C. <i>Bacillus anthracis</i>	88
D. <i>Listeria monocytogenes</i>	90
Daftar Pustaka	93
Tentang Penulis	97
BAB 7 BAKTERI PATOGEN GRAM (-) KOKUS	98
A. <i>Neisseria Sp.</i>	98
B. <i>Neisseria meningitidis</i>	100
C. <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	109
Daftar Pustaka	114

Tentang Penulis	115
BAB 8 BAKTERI PATOGEN GRAM (-) BATANG	116
A. Infeksi Pada Saluran Pencernaan	116
B. Infeksi Pada Darah	121
C. Infeksi Pada Saluran Kemih.....	123
D. Infeksi Pada Saluran Pernafasan	125
Daftar Pustaka	131
Tentang Penulis	134
BAB 9 PENYEBARAN DAN PENGENDALIAN BAKTERI (STERILISASI, DESINFEKSI, ANTIBIOTIKA)	135
A. Penyebaran Bakteri	135
B. Pengendalian Bakteri	137
C. Istilah – Istilah Khusus dalam Pengendalian Bakteri	137
D. Faktor yang Mempengaruhi Efektivitas Antimikroba	138
E. Pengendalian Bakteri Secara Fisika	139
F. Pengendalian Bakteri Secara Kimia.....	142
G. Pengendalian Bakteri Menggunakan Antibiotik	144
Daftar Pustaka	146
Tentang Penulis	147
BAB 10 PEWARNAAN BAKTERI	148
A. Pendahuluan	148
B. Jenis – Jenis Pewarnaan	150
Daftar Pustaka	162
Tentang Penulis	164
BAB 11 UJI BIOKIMIA BAKTERI	164
A. Uji TSIA (<i>Triple Sugar-Iron Agar</i>)	164
B. Uji <i>Methyl Red</i> (MR)	167
C. Uji <i>Voges Proskauer</i> (VP)	169
D. Uji SIM.....	170

Daftar Pustaka	173
Tentang Penulis	175
BAB 12 UJI SENSITIVITAS BAKTERI	176
A. Agen Kemoterapi	176
B. Pengujian Sensitivitas Bakteri	180
C. Uji Sensitivitas Bakteri Metode Difusi <i>Kirby-Bauer</i>	181
D. Uji Sensitivitas Bakteri Metode <i>Stokes</i>	190
E. Uji Sensitivitas Antibiotik Metode Agar Dilusi	193
F. Uji Sensitivitas Antibiotik Dilusi Cair	197
G. Uji Sensitivitas Antibiotik Metode <i>E-test</i>	200
Daftar Pustaka	204
Tentang Penulis	205
BAB 13 BAKTERIOLOGI AIR	206
A. Air	206
B. Bakteri Pada Air	207
C. Penyakit yang Disebabkan dari Air	209
D. Bakteri Patogen	210
E. Deteksi Cemaran Bakteri Pada Air	212
Daftar Pustaka	218
Tentang Penulis	221
BAB 14 BAKTERIOLOGI MAKANAN DAN MINUMAN	222
A. Pendahuluan	222
B. Pemanfaatan Bakteri dalam Makanan dan Minuman	225
C. Bakteri Pembusuk Makanan dan Minuman	227
D. Penyakit Bawaan Makanan	231
E. Deteksi Bakteri Pada Makanan dan Minuman	233
Daftar Pustaka	241
Tentang Penulis	244

BAB 1

MORFOLOGI, STRUKTUR DAN FISILOGI BAKTERI

A. Ragam Bentuk Morfologi Bakteri

Bakteri adalah organisme bersel tunggal yang memiliki ukuran mikroskopik dan berkembang biak secara sederhana. Perkembangan biakan bakteri dilakukan dengan cara pembelahan biner. Secara umum bakteri memiliki dinding sel dan tidak memiliki klorofil. Dibandingkan dengan jenis makhluk hidup lain, bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlah dan penyebarannya. Penyebaran bakteri dapat dijumpai di gurun pasir, salju, es hingga lautan. Begitu luasnya penyebaran bakteri ini memungkinkan untuk menjadi salah satu penyebab terjadinya penyakit pada manusia.

Ukuran bakteri yang mikroskopik atau sangat kecil menyebabkan tidak dapat teramatinya dengan jelas morfologi dan struktur lengkap dari organisme ini. Namun ukurannya jauh lebih besar dibandingkan ukuran virus (Glazer & Nikaido, 2007). Maka perlu bantuan mikroskop cahaya bahkan dengan mikroskop elektron, agar berbagai struktur halus yang ada diluar serta didalam sel bakteri dapat lebih jelas teramati. Dengan bantuan mikroskop, bentuk sel bakteri dapat dengan mudah diamati. Sel bakteri akan dengan mudah teramati menggunakan mikrometer okuler. Satuan dari pengukuran sel bakteri adalah mikron atau mikrometer (mm). (Parija, 2012).

1 micron (μm) = 1/1000 milimeter (mm)

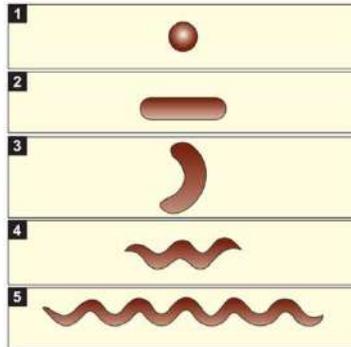
1 nanometer (nm) = 1/1000 micron (μm)

1 Angstrom unit (\AA) = 1/10 nm (nanometer)

Ukuran morfologi bakteri yang masih dapat dilihat dengan mata telanjang hanya mencapai ukuran 200 μm . Sel bakteri umumnya memiliki ukuran Panjang 2,0 – 5,0 μm dan lebar nya berkisar antara 0,2 – 1,5 μm (Parija, 2012). Beberapa spesies bakteri patogenik memiliki ukuran 0,4 – 2 μm .

Pengamatan tentang karakteristik morfologi koloni bakteri penting untuk dilakukan. Hal ini bertujuan agar mempermudah dalam proses identifikasi jenis bakteri. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan (Lay, 1994) bahwa berdasarkan ciri morfologi koloni bakteri dan biakan murni maka dapat dilakukan proses identifikasi jenis-jenis mikroorganisme. Namun, untuk memperoleh hasil identifikasi yang sempurna maka harus dilanjutkan dengan uji biokimia.

Bakteri memiliki bentuk morfologi yang beraneka ragam yaitu bulat (kokus), batang (basil) dan spiral (Gambar 1,4).

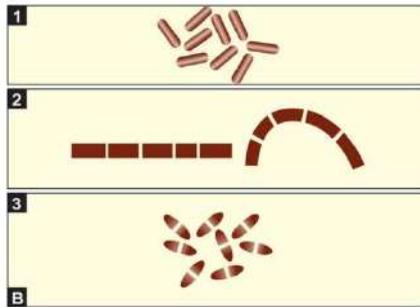


Gambar 1. Bentuk morfologi bakteri. 1. Kokus, 2. Basilus, 3. Vibrio, 4. Spiral, 5. Spirochete (Kumar, 2016)

a. Bakteri bentuk batang atau basil (*Bacillus*) (Gambar 2,4).

Dikelompokkan menjadi beberapa macam jenis sel;

- a. Monobasil (batang tunggal), yaitu bakteri yang hanya berbentuk satu batang tunggal, contoh *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*.
- b. Diplobasil (berkelompok dua-dua), yaitu penataan sel bakteri batang yang berkelompok dua-dua sel, atau berpasangan (dua-dua sel), contoh *Renibacterium salmoninarum*
- c. Streptobasil (rantai batang), yaitu penataan sel bakteri basil yang membentuk rantai, contoh *Bacillus anthracis*, *Azotobacter sp.*

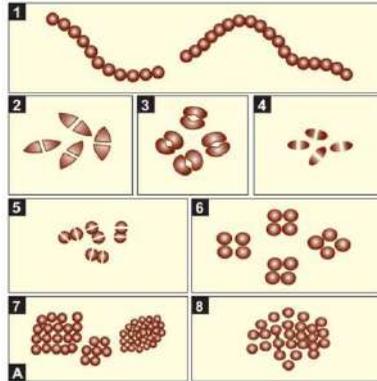


Gambar 2. Basilus. 1. Basil berkelompok, 2. Basil berbentuk rantai, 3. Diplobasil (Kumar, 2016)

b. Bakteri bentuk bulat (*coccus*) (Gambar 3,4).

Dikelompokkan menjadi beberapa macam jenis sel;

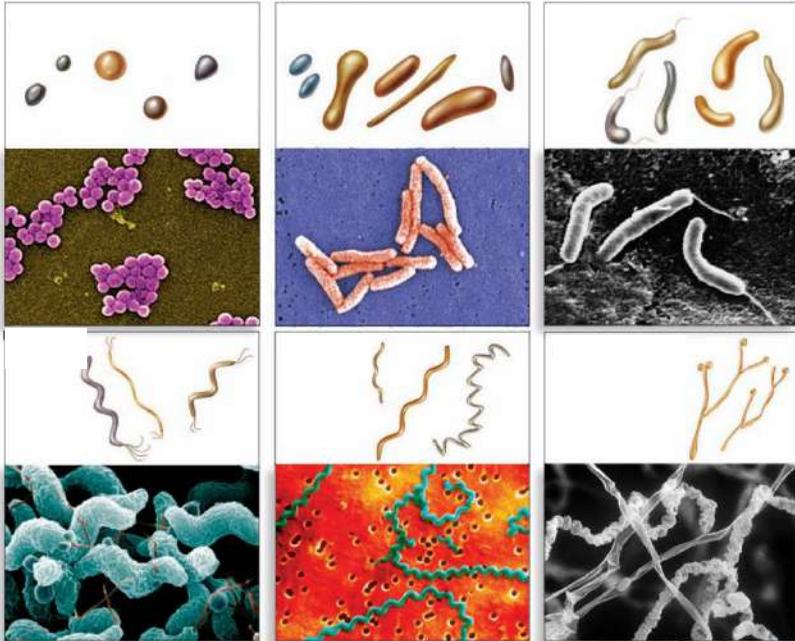
- a. Monokokus, yaitu bakteri berbentuk bulat tunggal, contoh *Neisseria gonorrhoeae*
- b. Diplokokus (*diplococci*), yaitu bakteri berbentuk bulat yang bergandengan dua-dua, contoh *Diplococcus pneumonia*
- c. Sarkina, yaitu bakteri berbentuk bulat berkelompok 8 sel atau lebih sehingga bentuknya mirip kubus
- d. Streptokokus, yaitu bakteri berbentuk bulat membentuk rantai Panjang atau pendek
- e. Stafilokokus, yaitu bakteri berbentuk bulat yang berkoloni membentuk sekelompok sel tidak teratur sehingga bentuknya mirip kumpulan buah anggur.



Gambar 3. Kokus. 1. Streptokokus, 2. Pneumokokus, 3. Gonokokus, 4. Meningokokus, 5. *Neisseria catarrhalis*, 6. *Gaffkya tetragena*, 7. Sarkina, 8. Stafilokokus (Kumar, 2016).

c. Bakteri bentuk spiral (Gambar 1, 4)

- a. Spiral, kelompok bakteri yang bentuknya seperti spiral contoh *Spirillum*
- b. Vibrio, merupakan bakteri berbentuk spiral tak sempurna, contoh *Vibrio cholera*
- c. Spiroseta, yaitu kelompok bakteri berbentuk spiral yang bersifat lentur. Ketika bergerak tubuhnya dapat memanjang dan mengkerut. contoh *Treponema pallidum*



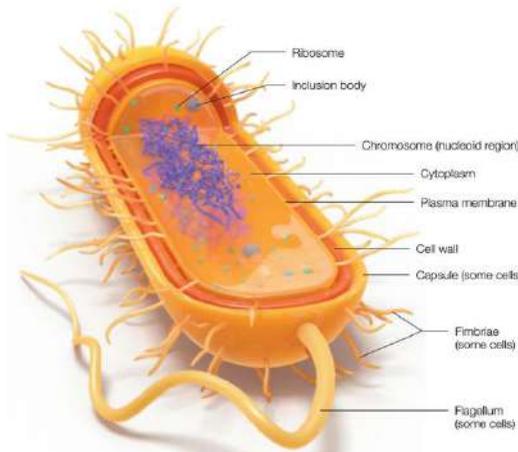
Gambar 4. (a) *Micrococcus luteus* (22.000x)(coccus), (b) *Legionella pneumophilla* (*Bacillus*) (6500x), (c) *Vibrio cholerae* (13.000x)(vibrio), (d) *Aquaspirillum* (7.500x)(spirillum), (e) *Spirochetes* (14.000x)(spiroseta), (f) *Streptomyces* (6500x) (Talaro & Chess, 2012)

B. Struktur Bakteri

Secara umum, struktur bakteri dibagi menjadi 2 yaitu (Gambar 5);

- a. Struktur dasar (dimiliki oleh hampir semua jenis bakteri) meliputi; dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, dan DNA

- b. Struktur tambahan (dimiliki oleh jenis bakteri tertentu) meliputi; kapsul, flagellum, pilus, fimbria, volutin dan endospora.



Gambar 5. Struktur Umum Bakteri (Norman-McKay, 2019)

Fungsi dari struktur bakteri tersebut meliputi;

1. Dinding sel

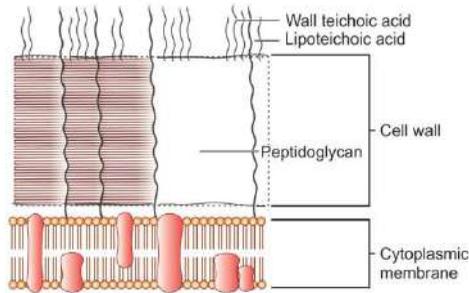
Dinding sel berfungsi dalam memberi bentuk dan melindungi bagian luar sel bakteri. Secara umum dinding sel terletak diantara kapsul dan membran sitoplasma, tersusun atas peptidoglikan, yaitu gabungan polisakarida dan protein. Karena sifatnya yang elastic, selain melindungi sel juga berpengaruh terhadap bentuk sel.

Berdasarkan perbedaan struktural dinding sel, bakteri diklasifikasikan menjadi Gram-positif dan Gram-negatif. Dinding sel bakteri Gram-positif memiliki struktur kimia yang

lebih sederhana dibandingkan dengan Gram-negatif (Willey, Sherwood, 2009).

◇ **Dinding sel bakteri Gram-positif (Gambar 6)**

Dinding sel berlapis tunggal. Peptidoglikan lebih tebal (15-80 nm), lebih kuat dan kandungan lipidnya rendah (1-4 %). Dinding sel bakteri Gram-Positif juga mengandung asam teikoat. Apabila diberi pewarnaan Gram, dinding selnya dapat menyerap warna violet (ungu). Contoh *Lactobacillus bulgaricus*

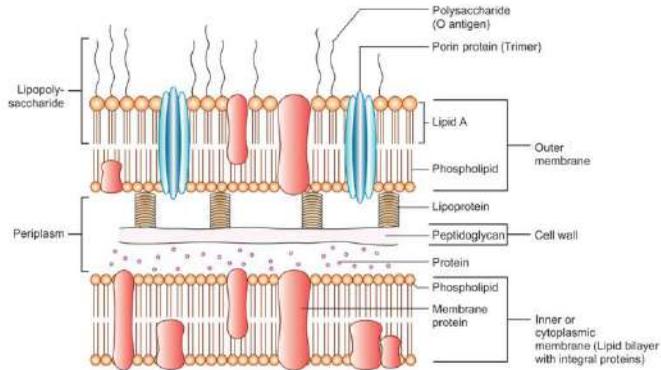


Gambar 6. Dinding sel bakteri Gram-Positif

◇ **Dinding sel bakteri Gram-Negatif (Gambar 7)**

Terdiri dari komponen peptidoglikan, lipoprotein, membrane luar, dan lipopolisakarida. Peptidoglikan nya lebih tipis dibanding Gram-positif dan kandungan lipidnya tinggi (11-22%). Lapisan peptidoglikan terikat pada lipoprotein secara kovalen di membran luar dan membrane plasma. Periplasma terdiri dari enzim degradasi dengan konsentrasi tinggi dan protein transport. Lipoprotein terikat ke peptidoglikan. Membrane luar melekat dengan lipoprotein. Apabila

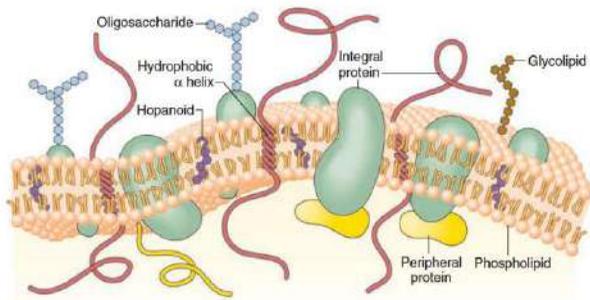
diberi pewarnaan Gram, dinding selnya dapat menyerap warna merah, Contoh *Salmonella typhi*.



Gambar 7. Dinding sel bakteri Gram-Negatif

2. Membran plasma (Gambar 8)

Membran plasma pada bakteri memiliki sifat *permeable selective* yang berperan dalam mengatur pertukaran zat antara sel dan lingkungannya. Secara umum membran plasma disusun atas fosfolipid dan protein. Membran plasma bakteri terletak dibagian bawah dinding sel tetapi tidak terikat.



Gambar 8. Struktur membran plasma bakteri (Brooks et al., 2013).

3. Sitoplasma

Merupakan suatu cairan sel tempat berlangsungnya reaksi metabolisme sel untuk mendapatkan energi. Didalamnya dapat ditemukan ribosom, granula, spora dan DNA.

4. Ribosom

Merupakan tempat terjadinya proses sintesa protein yang dibantu RNA (mRNA, rRNA, tRNA). Ukurannya sangat kecil (10 – 20 nm) (Tortora et al, 2010). Ribosom sel prokariotik (termasuk sel bakteri) disebut ribosom 70S, dipisahkan kedalam subunit 30S dan 50S. subunit 30S mengandung RNA 16S, sebaliknya subunit 50S mengandung RNA 23S dan 5S. Huruf S menunjukkan unit Svedberg, yang menunjukkan laju relatif sedimentasi (pengendapan) selama sentrifuge kecepatan tinggi.

5. Endospora

Merupakan strategi bakteri dalam mengatasi kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Endospore memiliki dinding tebal, tahan terhadap panas, dapat melakukan dormansi dan tahan lama. Adapun ciri-ciri endospore bakteri

yaitu; (1) dibentuk oleh semua spesies *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Sporosarcina*, (2) tahan terhadap pemanasan, desinfektan dan pengeringan, (3) terbentuk pada kondisi yang tidak memungkinkan untuk pertumbuhan sel vegetatifnya, (4) bentuk dan posisi endospore di dalam sel berbeda pada masing-masing spesies.

6. DNA (*deoxyribonucleic acid*)

Asam deoksiribonukleat yang berperan sebagai pembawa informasi genetik.

7. Kapsul

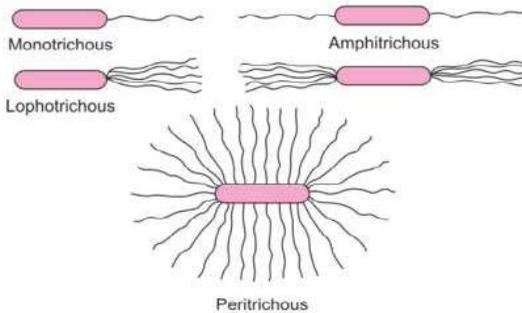
Merupakan lapisan luar dinding sel yang melindungi sel, baik dari fagositosis maupundari kondisi lingkungan seperti radiasi, kekeringan, maupun senyawa kimia. Selain itu berperan juga dalam upaya pertahanan diri dari antitoksin yang dihasilkan sel inang. Kapsul pada bakteri tersusun atas polisakarida dan protein dengan komposisi yang berbeda. Beberapa jenis bakteri melalui proses penanaman pada media gula tertentu ada yang langsung membentuk lendir yang kemudian berubah menjadi kapsula, misalnya pada *Leuconostoc mesenteroides*. Secara khusus, keberadaan kapsul pada bakteri memiliki arti penting karena erat hubungannya dengan sifat patogenitas (keganasan) suatu jenis. Pada bakteri patogen tertentu, keganasannya akan turun bila kapsul nya dihilangkan. Hal ini berkaitan dengan adanya bahan-bahan pembentuk kapsul yang memiliki sifat fatisitik pada bakteri tersebut (Alfred & Heidi, 2015).

8. Flagellum (Gambar 9)

Berperan sebagai alat gerak yang dapat ditemukan pada beberapa jenis bakteri. Flagella pada bakteri memiliki Panjang 3 – 20 um dan diameter 0,01 – 0,013 um. Terdapat beberapa tipe flagella. (1) monotrichous (monotrik), yaitu terdapat satu

flagella diujung (contoh *Vibrio cholera*), (2) Amphitrichous (amfitrik), yaitu memiliki satu flagel atau terdapat satu flagel dikedua ujung, (contoh *Alkaligenes faecalis*), (3) Lophotrichous (lofotrik), yaitu terdapat beberapa flagel di salah satu atau kedua ujung (contoh *Spirillia*), (4) Peritrichous (peritrik), yaitu terdapat flagella diseluruh permukaan tubuhnya (contoh *Typhoid bacilli*)

Pergerakan sel oleh flagella akan mendorong sel dengan putaran melingkar searah sumbu panjangnya, seperti baling baling. Putarannya dikuatkan oleh arus listrik. Flagella ganda akan memutar berlawanan dengan arah jarum jam untuk membentuk suatu berkas yang terkoordinir dan efek pergerakan sel umumnya kearah nutrisi (kemotaksis positif) (Salton et al., 2001).



Gambar 9. Susunan flagella (Kumar, 2016)

9. Mesosom

Merupakan penyedia energi atau pabrik energi pada bakteri. Selain itu berfungsi juga dalam sintesis dinding sel, dan pembelahan nucleus sel bakteri. Struktur mesosoma pada bakteri melipat kedalam (invaginasi) sitoplasma. Struktur

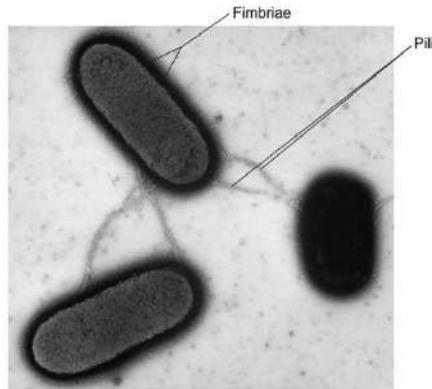
mesosom selalu sinambung dengan membrane sitoplasma (Pelczar, 1998).

10. Vakuola gas

Merupakan bagian dari sel bakteri yang dapat ditemukan pada bakteri yang hidup di air dan berfotosintesis

11. Mikrofibril: Fimbria / Pili (Gambar 10)

Fimbria disebut juga Pili merupakan benang-benang halus yang keluar atau menonjol dari dinding sel berukuran 0,004 – 0,008 μm . Dibandingkan dengan flagella, struktur fimbria lebih lurus, tipis dan pendek. Fimbria pada bakteri berperan dalam membantu bakteri bertahan hidup dan berinteraksi dengan sel inang. Salah satu aktivitas fungsional fimbria adalah adhesin, lektin, evasin, agresin dan pili seks. Adhesin adalah faktor pelekat spesifik pada bakteri pathogen yang menyebabkan infeksi. Spesifitas perlekatan fimbria dapat menyebabkan bakteri menempel dan berkoloni pada jaringan inang spesifik. Misalnya fimbria 987P, K88, K99 pada strain *E.coli* enteropatogen (penyebab diare) berfungsi untuk kolonisasi dalam usus babi dan anak sapi. Fimbria lainnya yang tergolong dalam kelompok protein disebut lektin. Lektin dapat ditemukan pada hewan dan tumbuhan yang berkaitan dengan gula spesifik pada permukaan sel. misalnya perlekatan fimbria *E.coli* dan *Shigella flexneri* terhadap sel darah merah dan jaringan (epitel usus) secara spesifik dihambat oleh D-manosa dan D-metilmanosida. Fimbria spesifik juga dimiliki beberapa bakteri untuk mengikat senyawa tertentu. Misalnya *Pseudomonas aeruginosa* memiliki fimbria spesifik untuk mengikat metil D-galaktosa dan *Vibrio cholerae* mengikat L-fruktosa atau D-mannosa.



Gambar 10. Pengamatan struktur pili dengan mikroskop electron pada *E.coli*. Pili sex pada bakteri *E.coli* Ketika konjugasi antar dua sel (Talaro & Chess, 2012).

C. Sifat, Karakter Fisiologi Bakteri

Untuk dapat bertahan hidup, terdapat beberapa sifat fisiologis yang diperlukan oleh bakteri, yaitu;

1. ***Air***. Untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan, bakteri memerlukan air dalam konsentrasi tinggi disekitarnya. Air merupakan pengantar semua bahan gizi yang diperlukan sel dan untuk membuang semua zat yang tidak diperlukan keluar sel.
2. ***Garam-garam organik***. Diperlukan dalam upaya mempertahankan keadaan koloidal dan tekanan osmotik di dalam sel, untuk memelihara keseimbangan asam basa dan berfungsi sebagai bagian enzim atau sebagai aktivator reaksi enzim.

3. **Mineral.** Diperlukan karbon, nitrogen, belerang, fosfat, aktivator enzim (Mg, Fe, K dan Ca).
4. **CO₂** diperlukan dalam proses sintesa dengan timbulnya asimilasi CO₂ di dalam sel
5. **O₂** Berdasarkan kebutuhan terhadap oksigen, bakteri dikelompokkan dalam 5 golongan; (1) Anaerob obligat, hidup tanpa oksigen, oksigen menjadi toksik terhadap golongan bakteri jenis ini. Contoh *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*. (2) Anaerob aerotolerant, tidak mati dengan adanya oksigen. (3) Anaerob fakultatif, mampu tumbuh baik dalam suasana dengan atau tanpa oksigen. Contoh *Streptococcus*, *Aerobacter aerogenes*, *Escherichia coli*. (4) Aerob obligat, dapat tumbuh subur bila ada oksigen dalam jumlah besar. Contoh *Mycobacterium tuberculosis*. (5) Mikroaerofilik, hanya tumbuh baik dalam tekanan oksigen yang rendah.
6. **Temperatur.** Untuk hidup, bakteri mempunyai temperatur optimum yaitu kondisi dimana bakteri tersebut dapat tumbuh sebaik-baiknya dan batas-batas temperatur dimana pertumbuhan dapat terjadi. Berdasarkan temperatur, bakteri dikelompokkan menjadi 3 golongan; (1) Psikrofilik (temp -5 sampai +20°C dengan optimum 1-20°C). (2) Mesofilik (temp 10 – 45°C dengan optimum 20 – 40°C). (3) Termofilik (temp 25 – 80°C dengan optimum 50 – 60°C)
7. **pH.** Keberadaan pH sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Bakteri patogen Sebagian besar hidup pada pH optimum 7,2 – 7,6
8. **Sumber C.** Berdasarkan sumber karbon (C), bakteri digolongkan kedalam 2 golongan ; (1) bakteri autotrof (litotrof), yaitu bakteri yang hanya memerlukan air, garam

anorganik dan CO_2 sebagai sumber C bagi pertumbuhannya, mensintesis Sebagian besar metabolik organik CO_2 . (2) bakteri heterotrof (organotrof), yang terbagi menjadi bakteri heterotrof fotosintetik (memperoleh energi dari cahaya) dan heterotrof kemosintetik (memperoleh energi dari oksidasi senyawa organik, memerlukan C dalam bentuk senyawa organik karbohidrat untuk pertumbuhannya) (Forbes et al., 2007).

Untuk dapat melihat sifat dan karakter fisiologi bakteri dapat dilakukan dengan pemeriksaan terhadap: (Misnadiarly & Djajaningrat, 2014).

1. Kebutuhan akan makanan bakteri tersebut. Apakah hanya membutuhkan makanan sederhana atau memerlukan zat-zat tambahan seperti darah.
2. Suhu. Diperlukan informasi suhu tertentu yang optimal untuk pertumbuhan bakteri tersebut.
3. Hubungan bakteri dengan O_2 dan CO_2 . Dilakukan pemeriksaan sifat bakteri apakah golongan aerob, anaerob dan tekanan CO_2 .
4. Hubungan bakteri dengan pH pembenihan. Diperlukan informasi pH optimum, pH maksimum-minimum dari bakteri tersebut.
5. Pembentukan pigmen. Diperiksa apakah bakteri tersebut membentuk pigmen pada pembenihan tertentu.
6. Daya proteolitik. Diperiksa apakah bakteri tersebut dapat mencairkan gelatin, mencernakan daging, serum dan sebagainya.

7. Peragian hidrat arang. Diperiksa apakah bakteri tersebut dapat membentuk asam, gas, glukosa dan hidrat arang.
8. Pembentukan indol. Diperiksa apakah bakteri dapat membentuk indol.
9. Pembentukan H₂S
10. Reduksi Nitrat. Diperiksa apakah bakteri dapat merubah nitrat menjadi nitrit
11. Reduksi litmus dan indikator lain
12. Hidrolisa tepung kanji. Diperiksa apakah bakteri tersebut dapat membentuk glukosa
13. Pembentukan “*acetyl methyl carbinol*”. Diperiksa dengan menggunakan tes Voges-Proskauer.
14. Derajat keasaman akhir dalam kaldu glukosa. Ditentukan dengan tetesan merah metil.

Daftar Pustaka

- Alfred, B., & Heidi, S. (2015). Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual In General Microbiology. *Current Protocols in Cytometry, 13th Editi*(April), 106.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2013). Medical Microbiology 26th edition. In *The McGraw-Hill Companies, Inc.* https://doi.org/10.1007/978-981-10-4511-0_4
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). *Bailey & Scotts Diagnostic Microbiology, 12th Edition*. Mosby Elsevier.
- Glazer, A. N., & Nikaïdo, H. (2007). *Microbial Biotechnology: fundamentals of Applied Microbiology*. Cambridge University Press. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
- Kumar, S. (2016). Essentials of Microbiology. In *Essentials of Microbiology*. <https://doi.org/10.5005/jp/books/12697>
- Lay, B. W. (1994). *Analisa mikroba dilaboratorium*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Misnadiarly, & Djajaningrat, H. (2014). *Mikrobiologi untuk Klinik dan Laboratorium*. Rineka Ciptya.
- Norman-McKay, L. (2019). *Microbiology: basic and clinical principles*. Pearson.
- Parija, S. C. (2012). Microbiology & Immunology 2nd edition. In *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย* (Vol. 4, Issue 1). Elsevier.
- Pelczar, M. J. (1998). *Dasar Dasar Mikrobiologi, diterjemahkan oleh Hadioetomo, R.S.* Universitas Indonesia (UI Press).
- Salton, M. R. J., Kim, K.-S., & Baron, S. (2001). *Structure of Bacteria*. University of Wisconsin-Madison. USA.
- Talaro, K. P., & Chess, B. (2012). *Foundations in Microbiology Eight Edition*. Mc Graw Hill companies.

[https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-
results](https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results)

Willey, Sherwood, W. (McGraw-H. H. E. (2009). Prescott's Principles of Microbiology. In *Journal of Chemical Information and Modeling*.

Tentang Penulis



Apriani. Lahir di Jakarta,. Jenjang Pendidikan S1 Biologi ditempuh di Institut Pertanian Bogor, lulus tahun 2007. Pendidikan S2 Biologi, lulus tahun 2009 di Institut Pertanian Bogor. Beberapa buku yang sudah di terbitkan; Buku Ajar Metodologi Penelitian, Buku Ajar Patofisiologi, Buku Ajar Anatomi Fisiologi, Buku Ajar Biomolekuler. Buku Ajar Statistik dan Buku Konsep Patofisiologi Keperawatan.

Email: aapriani1504@gmail.com. WA: 08128484619

BAB 2

PERTUMBUHAN DAN REPRODUKSI BAKTERI

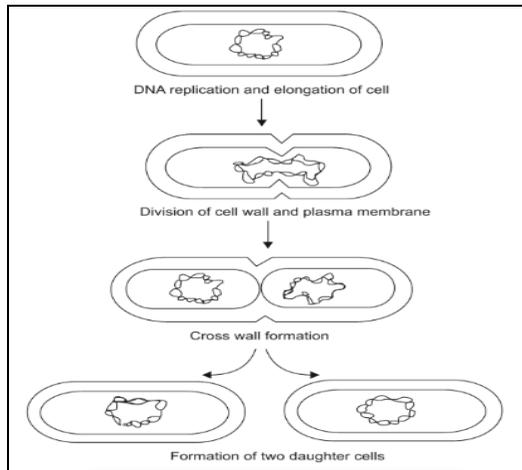
A. Pertumbuhan dan Reproduksi Bakteri

Pertumbuhan pada bakteri didefinisikan sebagai kenaikan yang konstan dari semua komponen kimiawi bakteri yang menyebabkan bertambahnya ukuran atau substansi atau masa zat. Pertumbuhan juga diartikan sebagai pertumbuhan koloni dimana terjadi pertambahan pada jumlah, ukuran atau massa sel pada koloni bakteri. Pertumbuhan bakteri tidak mengacu kepada perkembangan individu organisme sel tetapi pada pertambahan jumlah sel.

Reproduksi bakteri dilakukan melalui pembelahan biner atau *binary fission*. Proses pembelahan tersebut dinyatakan menyerupai pembelahan mitosis pada sel eukariot, namun tidak melibatkan

spindle dan kromosom. Pembelahan biner dinyatakan sebagai pembelahan sel secara melintang yang akan menghasilkan 2 sel anak yang identik dan terpisah. Proses pembelahan biner berlangsung melalui tiga fase yaitu (Gambar 1):

- a. Fase inisiasi (*initiation*): sel bersiap untuk melakukan pembelahan.
- b. Fase pemanjangan (*elongation*): sel mengalami pemanjangan, kromosom bereplikasi dan protein-protein untuk tahap pembelahan mulai disintesis.
- c. Fase pembelahan (*division*): Pada fase ini mesosom-perpanjangan dari plasma membran terlipat dan tumbuh ke bagian dalam membentuk sekat. Secara bersamaan dinding sel mulai disintesis. Sel induk kemudian membelah membentuk dua sel anak yang identik.



Gambar 1. Pembelahan Biner Bakteri (Patil and Muskan, 2009).

Bakteri akan membelah menjadi 2 sel anak, dari 2 menjadi 4 kemudian 4 menjadi 8 dan seterusnya. Pelipatgandaan sel sesuai dengan progresi geometric $2^0 \rightarrow 2^1 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \dots \rightarrow 2^n$. Apabila satu volume biak yang sedang tumbuh mengandung N_0 sel, maka jumlah sel sesudah n kali pembelahan adalah $N_0 \times 2^n$. Selanjutnya untuk menentukan nilai n , rumus tersebut dapat diturunkan dalam persamaan logaritma sebagai berikut:

$$\begin{aligned} N &= N_0 2^n \\ \text{Log } N &= \text{Log } N_0 + n \log 2 \\ \log N - \log N_0 &= n \log 2 \\ n &= (\log N - \log N_0) / \log 2 \\ n &= 3,3 (\log N - \log N_0) \end{aligned}$$

Pada kondisi optimal bakteri akan membelah diri setiap 15-20 menit. Selang waktu yang diperlukan bagi sel untuk membelah diri menjadi dua kali lipat disebut dengan waktu generasi. Waktu generasi tersebut bervariasi tergantung pada spesies dan kondisi pertumbuhannya.

B. Pertumbuhan dalam Biak Statik

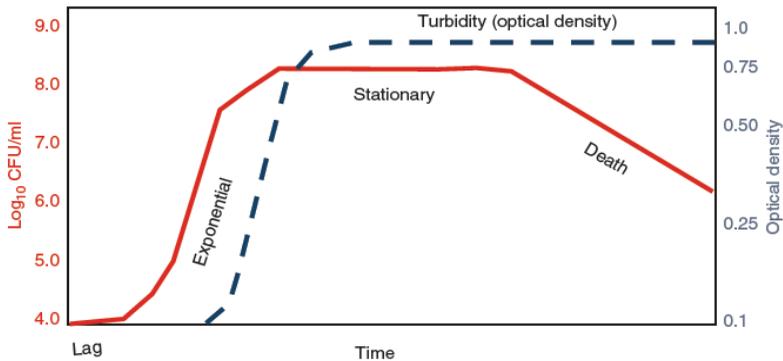
Bakteri apabila dikultivasi pada suatu media biak, maka akan terus mengalami pertumbuhan hingga salah satu faktor mencapai minimum dan pertumbuhan menjadi terbatas. Jika pada kondisi tersebut tidak ada penambahan nutrisi tumbuh atau penyaluran keluar produk metabolik maka lingkungan pertumbuhan tersebut disebut sebagai kultur biak statik. Dalam biak statik pertumbuhan

bakteri dapat dinyatakan dengan grafik logaritme jumlah sel hidup terhadap waktu atau dikenal dengan kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan bakteri berbentuk sigmoid dan dapat dibedakan menjadi beberapa tahapan yang sangat teratur yaitu tahap anjang-ancang/ adaptasi (*lag phase*), tahap eksponensial (*logaritmik*), tahap stasioner (*stationary phase*) dan tahap menuju kematian (*death/ decline phase*) (Gambar 2).

- a. **Tahap anjang-ancang/ adaptasi (*lag phase*):** Tahap anjang-ancang mencakup interval waktu antara saat penanaman dan saat tercapainya kecepatan pembelahan maksimum. Apabila bakteri dikultivasi pada media nutrisi baru maka populasi bakteri akan cenderung konstan pada periode awal. Pada periode *lag phase* ini bakteri masih beradaptasi dengan kondisi biak baru. Bakteri secara aktif melakukan proses metabolisme tapi tidak melakukan pembelahan dengan mulai mensintesis enzim, koenzim dan molekul esensial lain.
- b. **Tahap eksponensial (*logaritmik*):** Tahap eksponensial merupakan fase dimana bakteri melakukan pembelahan maksimum yang konstan dimana penambahan jumlah sel menjadi 2 kali lipat (*generation time*). Pada tahap ini terjadi peningkatan kerapatan sel dan penimbunan produk metabolisme.
- c. **Tahap stasioner (*stationary phase*):** Tahap ini dicirikan dengan terjadinya keseimbangan antara jumlah sel hidup dan sel yang mati sehingga kurva menjadi horizontal. Jumlah bakteri berhenti meningkat karena penurunan derajat pembelahan sel akibat penipisan kadar nutrisi dan peningkatan produk metabolisme yang bersifat toksik. Fase

stasioner umumnya tercapai ketika populasi mencapai 10^9 sel/ml.

- d. **Tahap menuju kematian (*death/decline phase*)** : Tahap ini merupakan kebalikan dari fase eksponensial dimana dicirikan dengan tingkat kematian sel yang mencapai maksimum. Tingginya tingkat kematian sel disebabkan oleh rendahnya kadar nutrisi dan tingginya produk metabolisme yang bersifat toksik.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri (Sumber : Maier, 2000)

C. Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yang meliputi:

1. Suhu/ temperatur

Kelangsungan hidup sel bakteri akan tergantung pada kemampuannya beradaptasi dengan variasi suhu lingkungan habitat alaminya. Kisaran suhu untuk pertumbuhan bakteri

dapat dinyatakan kedalam tiga suhu kardinal yaitu minimum, maksimum dan optimum. Suhu minimum merupakan suhu terendah dimana masih memungkinkan bagi bakteri untuk melakukan metabolisme. Suhu maksimum adalah suhu tertinggi dimana pertumbuhan dan metabolisme dapat dilanjutkan. Sedangkan suhu optimum adalah kisaran suhu yang paling tepat bagi bakteri untuk melakukan metabolisme secara optimal. Suhu dibawah minimum dapat menyebabkan inaktivasi enzim bakteri. Sementara suhu diatas maksimum dapat menyebabkan denaturasi enzim dan asam nukleat bakteri yang menyebabkan kematian.

Pada sebagian besar bakteri, pertumbuhan optimal berlangsung pada kisaran suhu 20-45⁰C. Bakteri patogen khususnya pada manusia memiliki kisaran suhu optimum yang sama dengan suhu tubuh manusia yaitu 37⁰C. Berdasarkan suhu cardinalnya bakteri dapat dikelompokkan menjadi 3 golongan yaitu bakteri psychrofil, mesofil dan thermofil (Tabel 1).

Tabel 1. Pengelompokan bakteri berdasarkan suhu pertumbuhannya

Golongan	Suhu pertumbuhan		
	Minimum	Optimum	Maksimum
Psychrofil	0 ⁰ C	10 – 15 ⁰ C	30 ⁰ C
Mesofil	15 - 25 ⁰ C	25 – 40 ⁰ C	40 – 55 ⁰ C
Thermofil	25 - 45 ⁰ C	50 – 60 ⁰ C	60 - 90 ⁰ C

2. Cahaya

Cahaya dimanfaatkan oleh bakteri fotoautotrof untuk proses fotosintesis. Bakteri umumnya adalah mikroorganisme chemotrophs yang memperoleh energi dari oksidasi donor electron dalam lingkungannya. Cahaya sebagian besar memiliki sifat merusak sel bakteri yang tidak memiliki pigmen fotosintesa. Sehingga di laboratorium dibutuhkan cahaya dengan panjang gelombang yang sesuai untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri dapat terhambat oleh sinar atau cahaya ultraviolet, infrared, sinar-X dan sinar gamma yang merusak sel bakteri.

3. Derajat keasaman (pH)

Enzim dan zat seluler bakteri sangat dipengaruhi oleh pH sehingga pertumbuhannya dalam media tertentu dapat dihambat jika pH tidak sesuai. Secara umum pH asam dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sebagian besar bakteri memiliki kisaran pH netral (pH 7,0) atau sedikit basa (pH 7,2 – 7,4). Namun ada beberapa mikroorganisme yang hidup pada pH ekstrim. Berdasarkan pH pertumbuhannya, bakteri dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu:

- a. Asidofilik yaitu bakteri yang dapat tumbuh pada kisaran pH 1,0 – 6,5.
- b. Neutrofilik yaitu bakteri yang dapat dtumbuh pada kisaran pH 6,9 – 7,4.
- c. Alkalifilik yaitu bakteri yang dapat tumbuh pada kisaran pH 7,5 – 14.

4. Kelembaban

Air merupakan nutrisi penting bagi kehidupan bakteri. Kondisi lingkungan yang lembab atau basah merupakan penunjang terbesar bagi kehidupan bakteri. Sebagian besar bakteri hidup tumbuh dengan baik pada media yang basah dan udara lembab. Suasana kering dapat menyebabkan kematian pada bakteri.

5. Tekanan osmotik

Sebagian besar bakteri memiliki kemampuan dalam menahan tekanan osmosis luar dan kekuatan ion yang bervariasi. Hal ini disebabkan karena bakteri dapat mengatur osmolalitas dan konsentrasi ion. Protoplasma bakteri memiliki tekanan osmotik yang lebih tinggi dari air murni, sehingga jika sel bakteri dimasukkan ke dalam larutan hipotonis cairan akan memasuki sel yang menyebabkan sel mengembang dan mungkin pecah atau mati (*plasmolisis*). Sedangkan jika sel bakteri dimasukkan ke dalam larutan yang bersifat hipertonis misalnya NaCl pekat maka air akan keluar dari sel bakteri. Hal tersebut menyebabkan mengkerutnya sitoplasma dan lepasnya membrane plasma dari dinding sel (*plasmolysis*). Oleh karena itu untuk mempertahankan hidupnya sel bakteri harus berada pada tekanan osmotik yang seimbang. Bakteri Gram positif umumnya memiliki tekanan osmotik internal yang lebih tinggi dibandingkan Gram negatif. Bakteri *Escherichia coli* memiliki tekanan osmotik $4-8 \times 10^5$ Pa sedangkan *Staphylococcus aureus* memiliki tekanan osmotik $20-25 \times 10^5$ Pa.

6. Oksigen

Oksigen untuk sel bakteri tersedia dalam oksigen molekul (O_2), bentuk air atau dalam CO_2 maupun senyawa organik lainnya. Fungsi utama oksigen bagi sel adalah sebagai aseptor elektron terminal pada respirasi aerob dimana pada prosesnya oksigen akan direduksi menjadi air. Produk sampingan alami dari metabolisme aerob adalah hydrogen peroksida (H_2O_2) dan superoksida (O_2^-). Hydrogen peroksida memiliki efek toksik karena dapat merusak DNA. Sementara itu H_2O_2 dan O_2^- dapat berikatan dengan besi membentuk radikal hidroksil ($\cdot OH$) yang dapat merusak makromolekul biologis. Bakteri dalam melindungi selnya memiliki enzim superoksida dismutase dan katalase yang dapat memecah produk-produk reaktif tersebut. Berdasarkan responnya terhadap oksigen maka bakteri dapat dikelompokkan menjadi:

- a. **Aerob obligat:** hidup dalam lingkungan dengan O_2 bebas untuk pertumbuhan yang digunakan sebagai akseptor hydrogen dalam rantai respirasinya.
- b. **Anaerob obligat:** hidup dalam lingkungan tanpa O_2 bebas, memerlukan substansi lain selain O_2 untuk akseptor hydrogen.
- c. **Anaerob fakultatif:** dapat menyesuaikan metabolisme dengan kondisi oksigen yang ada.
- d. **Mikroaerofil:** membutuhkan O_2 dalam jumlah sedikit untuk respirasi aerobnya (2-10%) dimana konsentrasi yang lebih tinggi dapat menghambat pertumbuhan.
- e. **Aerotolerant anaerob:** dapat tumbuh pada kondisi dengan oksigen tetapi tidak menggunakannya sebagai aseptor hydrogen dalam rantai respirasinya.

7. Nutrisi

Pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh nutrisi di lingkungan atau media pertumbuhannya. Beberapa komponen nutrisi yang penting bagi pertumbuhan bakteri diantaranya:

1. **Karbon (C):** merupakan komponen utama dari makromolekul biologis. Sumber C dapat berupa karbon organik atau anorganik. Beberapa bakteri mendapatkan sumber C dari CO_2 , sedangkan yang lainnya memerlukan karbon dalam bentuk organik. Metabolisme karbon bagi bakteri sangat penting tidak hanya sebagai komponen utama makromolekul namun karbon juga sangat berperan sebagai substrat dalam proses pembentukan energi.
2. **Nitrogen (N):** merupakan komponen utama penyusun bahan seluler organik dan diperkirakan jumlahnya kurang lebih 10% dari berat kering bakteri. Sumber N dapat berasal dari ammonia, nitrat, nitrit atau senyawa organik lainnya yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri. Nitrat dan nitrit dapat berdifusi masuk ke dalam sebagian besar sel bakteri melalui saluran transmembran dalam bentuk gas NH_3 terlarut.
3. **Sulfur (S):** merupakan komponen dari banyak substansi sel organik. Sulfur penting dalam proses sintesis asam amino (*cysteine dan methionine*) dan protein lainnya. Beberapa jenis bakteri menggunakan sulfat sebagai sumber sulfur dengan mereduksi sulfat menjadi hidrogen (H_2S).

4. **Fosfor (P):** merupakan penyusun dari asam nukleat, nukleotida dan fosfolipid dari bakteri. Beberapa senyawa fosfor organik dapat mengakumulasi energi melalui ikatan makroenergi yang digunakan untuk proses biosintesis.
5. **Unsur-unsur mikro:** unsur mikro sangat berperan dalam reaksi biosintesis sel pada bakteri. Mikronutrien juga ditemukan sebagai bagian kofaktor atau enzim yang berperan dalam proses katalisis dan pembentukan protein. Unsur mikro yang diperlukan diantaranya zinc (Zn), tembaga (Cu), Mangan (Mn), Nikel (Ni), kobalt (Co) dan Molibdenum (Mo).

D. Media Kultur

Media kultur bakteri adalah substansi yang mengandung bahan nutrisi untuk menumbuhkan atau kultivasi bakteri secara *in vitro* di laboratorium. Selain itu media kultur juga penting untuk menguji sifat fisiologi dan biokimia bakteri dan perhitungan bakteri.

Media kultur bakteri berdasarkan bentuknya dikategorikan menjadi tiga yaitu media cair (*broth*) dan media padat (*solid*) dan media semi padat.

1. **Media cair:** pada media ini tidak ditambahkan dengan zat pematat (agar) sehingga berbentuk cair atau encer. Media cair umumnya digunakan untuk menumbuhkan kultur biomassa, uji metabolisme atau inokulasi jenis bakteri tertentu. Beberapa jenis media cair diantaranya *nutrient broth*, *tryptic soy broth*, *thioglycolate broth* dan *lysogeny broth*.

2. **Media padat:** media ini ditambahkan zat pematid (agar) kurang lebih 15% sehingga menjadi padat. Media padat merupakan jenis yang paling banyak digunakan untuk kultivasi bakteri di laboratorium. Inokulasi bakteri pada media padat memungkinkan bakteri tumbuh membentuk koloni dengan ciri yang khas pada masing-masing spesies. Beberapa jenis media padat diantaranya *Muller Hinton Agar*, *Nutrient Agar*, *Eosin Methylene Blue Agar* dan *MacConkey agar*.
3. **Media semi padat:** pada media ini mengandung agar kurang lebih 0,3 – 0,4% sehingga media menjadi semipadat. Media ini dapat digunakan untuk uji motilitas atau transport spesimen. Beberapa jenis media semi padat diantaranya *Sulfide Indole Motility (SIM)*, *Mannitol Motility Medium* dan *Amies Medium*. Media kultur bakteri juga dapat dikelompokkan berdasarkan fungsi atau tujuan penggunaannya yang meliputi:
 - a) **Media selektif** – digunakan untuk menumbuhkan bakteri tertentu secara spesifik. Jenis media ini umumnya mengandung substansi yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri spesifik dan menghambat pertumbuhan bakteri lain. Misalnya media *Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)* yang mengandung pewarna *metilen blue* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif.
 - b) **Media differential** – Media ditambahkan beberapa senyawa atau substansi spesifik yang dapat memberikan perbedaan karakteristik dari koloni bakteri sehingga memungkinkan untuk melakukan identifikasi. Misalnya pada media agar darah (*blood agar*) bakteri dapat tumbuh

membentuk warna koloni dan zona berbeda tergantung dari kemampuannya dalam melakukan hemolisa.

- c) **Media diperkaya** – media yang ditambahkan substansi spesifik tertentu pada media dasar/batal untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Substansi yang dapat ditambahkan diantaranya darah, serum, albumin, fosfat dan lain-lain.
- d) **Media penghitung** – media yang digunakan secara spesifik untuk melakukan perhitungan koloni mikroba dari berbagai sumber seperti air, susu atau larutan lain. Misalnya media *Plate Count Agar* (PCA) yang merupakan media standar perhitungan total bakteri dari berbagai sampel uji.
- e) **Media penguji** – media yang digunakan untuk melakukan karakterisasi metabolisme bakteri berdasarkan kemampuannya dalam memanfaatkan senyawa tertentu.
- f) **Media transport** – media yang didisain untuk melakukan transpot atau pengisiman spesimen untuk pemeriksaan mikrobiologi. Misalnya *media Stuart* didisain sebagai media transport spesimen klinis dengan suspek gonokokus. Selain itu juga dapat digunakan sebagai media transport spesimen usap luka, tenggorok atau kulit yang diduga mengandung bakteri *fastidious*.

Daftar Pustaka

- Carrol, K.C., S.A. Morse., T. Mietzner., S. Miller. (2016). *Jawetz, Melnick, & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Entjang, Indan. (2003). *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Bandung. Penerbit PT Citra Aditya Abadi.
- Fifendy, M. (2017). *Mikrobiologi*. Depok. Penerbit Kencana.
- Jamil, S.N.A., A. Wijaya., E. Sendra., I. W. Rahman., R. Chairiyah., A. Ulimaz., T. P. Wahyuni., I. M. Abna., R. A. Ifadah., Lindawati. (2022). *Mikrobiologi*. Sumatera Barat. Penerbit PT. Global Eksekutif Teknologi.
- Jufri, R. F. (2020). *The Effect of Environmental Factors on Microbial Growth*. *Journal La Fifesci*, 1(01), 012-017. <https://doi.org/10.37899/journallalifesci.v1i1.32>.
- Kushkevych, I. 2022. *Bacterial Physiology and Biochemistry*. India. Stacy Masucci Publisher.
- Maier., R.M. (2009). *Environmental Microbiology*. London United Kingdom. Academic Press Inc.
- Marro, F.C., F. Laurent., J. Josse., A. J. Blocker. 2022. *Methods to monitor bacterial growth and replicative rates at the single-cell level*. 46(6) 1-30. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuac030>
- Patil, U.K., K. Muskan. 2009. *Essentials of Biotechnology*. New Delhi India. I.K. International Publishing House Pvt. Ltd.

Schlegel, H.G., K. Schmidt. (1994). *Mikrobiologi Umum Edisi Keenam*.
Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.

Srivastava, S., P.S. Srivastava. (2003). *Understanding Bacteria*.
Netherlands. Kluwer Academic Publishers.

Suprapti, L. (2020). *Pedoman Pembuatan Media dan Reagensia Racik*.
Yogyakarta. Penerbit Deepublish.

Tentang Penulis



Ni Wayan Desi Bintari., lahir di Desa Bedulu, Kabupaten Gianyar, Bali pada 21 Desember 1991. Jenjang Pendidikan S1 ditempuh di Universitas Udayana, Kota Badung Bali lulus tahun 2014. Pendidikan S2 Ilmu Biologi dengan konsentrasi Biodiversitas Mikroorganisme, lulus tahun 2016 di Universitas Udayana. Saat ini aktif sebagai Dosen Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga STIKES Wira Medika Bali. Beberapa mata kuliah yang diampu diantaranya Bakteriologi, Mikologi dan Parasitologi. Penulis secara aktif melakukan riset di bidang Mikrobiologi dan menerbitkan beberapa publikasi artikel ilmiah. Penulis dapat dihubungi pada alamat email : desibintari@gmail.com atau HP/WA di 085737449337.

BAB 3

GENETIKA DAN METABOLISME BAKTERI

A. Pendahuluan

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik yang relatif sederhana, dan mudah untuk dimanipulasi di dalam laboratorium. Untuk alasan ini, banyak metode pada biologi molekular dan teknologi rekombinasi DNA yang dikembangkan pada sistem bakteri. Banyak mekanisme molekuler dasar dalam sel, seperti translasi dan replikasi, berawal dari studi yang dilakukan pada bakteri. Itu sebabnya studi genetika pada bakteri memeran peranan penting pada perkembangan ilmu genetika secara global.

Sains molekular genetik dimulai dari penentuan struktur DNA. Pada tahun 1953, Francis Crick and James mengilustrasikan struktur DNA berupa *double helix*. Untai ganda ini sangat panjang

bahkan untuk bakteri sederhana saja mencapai 1 mm, ribuan kali lebih panjang dari bakteri itu sendiri (Snyder). Secara garis besar, struktur DNA bakteri sama dengan organisme eukariot. Deoksinukleotida tersusun atas basa, gula dan pospat. Basa DNA terdiri atas Adenin (A), Sitosin (S), Guanin (G), dan Timin (T). Purin terdiri atas A dan G dengan dua cincin, sedangkan pirimidin terdiri atas S dan T dengan hanya 1 cincin. Semua keempat basa tersebut melekat pada gula deoksiribosa yang memiliki 5 karbon. Gula ini serupa dengan ribosa yang ditemukan pada RNA, kecuali tidak memiliki oksigen yang melekat pada karbon keduanya (Snyder & Champness, 2007).

B. Perbedaan Genom Prokariot dengan Eukariot

Perbedaan antara sel prokariotik (bakteri) dan eukariotik secara mendasar adalah sel eukariot memiliki nukleus bermembran, kompleks sistem endomembran dan sitoskeleton, sedangkan prokariot tidak memilikinya (Vellai & Vida, 1999). Sejatinnya, perbedaan organisasi genom prokariot dan eukariot akan dijelaskan selanjutnya. Panjang genom prokariot berkisar pada 600 kilo *base pairs* (Kb) sampai 9,5 Mega *base pairs* (Mb) (Fonstein & Haselkorn, 1995), sedangkan untuk eukariot lebih panjang lagi sampai 140.000 Mb dengan segala kompleksitasnya. Jumlah panjang basa rerata gen pada prokariot adalah 900 *base pair* (bp), sedangkan eukariot adalah 2500 bp. Jumlah rerata gen yang terdapat pada prokariot adalah 4300 gen (contoh rerata bakteri *Escherichia coli*), sedangkan pada eukariot adalah 19.000 gen (contoh rerata cacing *Caenorhabditis elegans*). Pada prokariot, hanya sebagian kecil organisme seperti cyanobacteria dan proteobacteria yang memiliki intron berupa Grup II *self-splicing*. Intron adalah wilayah *In between*

pada gen yang tidak ditranskripsikan. Intron ini umum terdapat pada eukariot. Pada prokariot, genomnya berupa haploid, sedangkan pada eukariot terdapat sel yang haploid maupun diploid atau poliploid. Pada prokariot, kromosomnya berjumlah satu, walaupun beberapa bakteri memiliki ekstrakromosomal DNA yaitu plasmid. Sedangkan kromosom pada eukariot berjumlah lebih dari 1 (Vellai & Vida, 1999).

C. Replikasi Kromosom Bakteri

Replikasi atau penggandaan DNA bakteri terjadi saat siklus pembelahan sel. Molekul DNA bakteri membawa banyak gen yang kita kenal sebagai kromosom, sebagai analogi pada organisme tingkat tinggi. Kromosom ini dibedakan dengan molekul plasmid, yang dapat seukuran kromosom, tetapi plasmid selalu membawa gen yang tidak berhubungan dengan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan. Umumnya bakteri hanya mengandung satu kromosom, hal ini membuat kromosom adalah DNA yang unik, Pada beberapa kasus, bakteri mengandung beberapa salinan kromosom, dalam arti lain bakteri mengandung lebih dari satu kromosom. Bagaimanapun, salinan ini tidak disebut sebagai kromosom yang berbeda, karena salinan kromosom tersebut berasal dari replikasi. Struktur DNA bakteri berbeda dengan kromosom organisme tingkat tinggi. Kromosom DNA bakteri berbentuk sirkular, sedangkan kromosom eukariot berbentuk linear dengan ujung bebas. Kromosom DNA bakteri yang sirkuler memungkinkan replikasi berlangsung keseluruhan kromosom tanpa adanya telomer seperti pada organisme eukariotik. Perbedaan juga terletak pada DNA eukariotik yang dikemas oleh protein bernama histon yang membentuk nukleosom, sedangkan

untuk bakteri, DNA dikemas dengan pengemas seperti histon seperti HU dan HN-S. Secara umum, struktur DNA bakteri lebih sederhana dibandingkan eukariotik (Snyder & Champness, 2007).

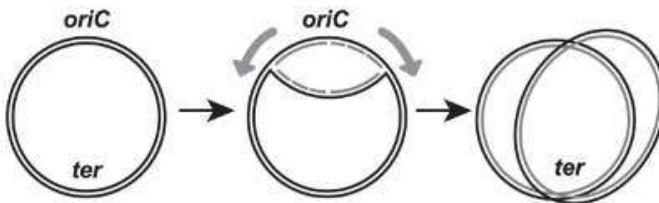
Replikasi dimulai pada posisi kromosom yang dikenal dengan “origin” dimana ditandai dengan protein inisiator yang melekat pada DNA untuk memulai replikasi. Bakteri umumnya mengandung hanya satu kromosom dengan satu origin pada dua cabang replikasi dengan arah replikasi bergerak dengan arah yang berlawanan (Gambar 1). Walaupun tidak semua bakteri mengikuti aturan ini. Kasus ini untuk *Escherichia coli* yang memiliki DNA genom sirkuler sepanjang 4,4 Mb, yang membentuk replikon (salinan DNA hasil replikasi) tunggal dari origin tunggal. Dengan rerata replikasi 1 Kb/detik untuk satu arahnya, genom ini akan tereplikasi sempurna dalam 30 menit. Sedangkan, eukariotik memiliki beberapa kromosom yang linear dengan banyak origin. Origin yang banyak dibutuhkan oleh eukariot karena mereka memiliki genom yang jauh lebih besar dibandingkan dengan bakteri. Replikasi pada eukariotik juga berjalan 20 kali lebih lambat dibandingkan replikasi pada bakteri. Sebagai contoh, kromosom terbesar manusia yaitu kromosom nomor 1, memiliki ukuran 250 Mb dan jika hanya memiliki satu origin, maka membutuhkan waktu lebih dari 50 hari untuk bereplikasi, dibandingkan dengan rerata pembelahan sel eukariotik yaitu 24 jam (O'Donnell et al., 2013).

Replikasi DNA pada model *E. coli* sudah banyak dipelajari dan menjadi dasar replikasi pada banyak organisme. Pada *E. coli*, DNA replikasi diinisiasi pada *oriC* yang merupakan lokus origin unik (Gambar 1). Diawali dengan replikasi DNA pada *oriC* yang dibantu oleh protein inisiator DnaA yang mengekspos dua templat *single strand* DNA (ssDNA) sebagai platform untuk bekerjanya DnaB

helikase (2-4). Setiap DnaB heksamer merekrut primase (DnaG), yang mensintesis RNA primer, untuk memulai sintesis DNA bersamaan dengan enzim DNA polimerase III (10-13). Protein ini membentuk replisom yang dapat menggandakan genom *E. coli*. Setelah protein tersebut terpasang, replisom mereplikasi DNA dari *oriC* secara dua arah yang berlawanan. Kedua arah replikasi akan bertemu pada titik *ter* yang artinya terminasi atau berhentinya proses replikasi. Setelah DNA replikasi selesai, genom baru hasil replikasi akan terpisah dan tersegregasi pada sel anakan hasil pembelahan.

D. Plasmid

Plasmid adalah DNA ekstrakromosomal (di luar kromosom) yang pertama kali diidentifikasi pada kelompok bakteri *Enterobacteriaceae*. Plasmid juga diketahui terdapat pada organisme prokariotik sederhana seperti jamur. Gen yang terkandung dalam plasmid diketahui tidak berperan penting pada pertumbuhan bakteri dan fungsi vital lainnya. Pada banyak kasus juga membuktikan bahwa bakteri yang keilangan plasmidnya tidak menyebabkan kematian pada bakteri tersebut.



Gambar 1. Replikasi DNA bakteri yang melibatkan origin dan arah replikasinya. Gambar berasal dari (Windgassen et al., 2018)

Plasmid umumnya berbentuk superkoil. Panjang plasmid berkisar antara beberapa kilo basa sampai ratusan kilo basa. Plasmid yang kecil umumnya terdapat dalam beberapa salinan, sedangkan plasmid yang besar umumnya memiliki salinan yang lebih sedikit. Pada bakteri penting dalam kesehatan, plasmid menjadi ancaman bagi tenaga kesehatan maupun masyarakat karena pada bakteri klinis seringkali ditemukan plasmid yang mengandung gen resistensi terhadap antibiotik maupun gen virulensi. Terlebih lagi, plasmid dapat berpindah dari bakteri sesama jenis, maupun pada bakteri yang berbeda jenis. Bakteri resisten banyak antibiotik seperti *multidrug resistant* (MDR) dan *extensively drug resistant* (XDR) membuat pilihan antibiotik semakin terbatas dalam mematikan bakteri tersebut. Bakteri dengan kategori MDR dan XDR sudah ditemukan di Indonesia dari sumber baik sampel klinis maupun permukaan yang dapat menjadi sumber infeksi nosokomial (Ilsan et al., 2022)(Inggraini et al., 2021)(Ilsan et al., 2023).

E. Efek Plasmid terhadap metabolisme *Escherichia coli*

Studi menunjukkan bahwa kehilangan plasmid pada bakteri tidak memberikan efek kematian. Tetapi, diketahui keberadaan plasmid dapat merubah metabolisme pada bakteri. Dari semua perubahan karena efek keberadaan plasmid, rerata pertumbuhan (*growth rate*) bakteri adalah yang paling dipelajari. Banyak penelitian yang menyatakan bahwa plasmid mempengaruhi rerata pertumbuhan bakteri. Kultur *batch* dan *continuous* dari banyak populasi dari bakteri tanpa plasmid terhadap bakteri dengan plasmid sudah banyak diobservasi dalam eksperimen. Populasi campuran bakteri tanpa plasmid selalu tumbuh lebih cepat

dibandingkan bakteri dengan plasmid. Studi juga menunjukkan bahwa ukuran plasmid dan jumlah salinan plasmid menyebabkan efek negatif terhadap pertumbuhan bakteri (Diaz Ricci & Hernández, 2000).

Daftar Pustaka

- Diaz Ricci, J. C., & Hernández, M. E. (2000). Plasmid effects on *Escherichia coli* metabolism. *Critical Reviews in Biotechnology*, 20(2), 79–108. <https://doi.org/10.1080/07388550008984167>
- Fonstein, M., & Haselkorn, R. (1995). Physical mapping of bacterial genomes. *Journal of Bacteriology*, 177(12), 3361–3369. <https://doi.org/10.1128/jb.177.12.3361-3369.1995>
- Ilsan, N. A., Yunita, M., Dewi, N. K., Irham, L. M., Nurfajriah, S., & Inggraini, M. (2023). Potentially Virulent Multi-Drug Resistant *Escherichia fergusonii* Isolated from Inanimate Surface in a Medical University: *Omphisa fuscidentalis* as an Alternative for Bacterial Virulence Determination. *Diagnostics*, 13(279), 1–10. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13020279>
- Ilsan, N. A., Yunita, M., Nurfajriah, S., & Inggraini, M. (2022). *H a y a t i*. 29(4), 540–548. <https://doi.org/10.4308/hjb.29.4.540-548>
- Inggraini, M., Nurfajriah, S., Priyanto, J. A., & Ilsan, N. A. (2021). Antimicrobial susceptibility and molecular species identification of clinical carbapenem-resistant bacteria. *Biodiversitas*, 22(2), 555–562. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220206>
- O'Donnell, M., Langston, L., & Stillman, B. (2013). Principles and concepts of DNA replication in bacteria, archaea, and eukarya. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(7), 1–13. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010108>

- Snyder, L., & Champness, W. (2007). *Molecular genetics of bacteria* (3rd ed.). ASM Press, American Society for Microbiology.
- Vellai, T., & Vida, G. (1999). The origin of eukaryotes: The difference between prokaryotic and eukaryotic cells. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 266(1428), 1571–1577. <https://doi.org/10.1098/rspb.1999.0817>
- Windgassen, T. A., Wessel, S. R., Bhattacharyya, B., & Keck, J. L. (2018). Mechanisms of bacterial DNA replication restart. *Nucleic Acids Research*, 46(2), 504–519. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1203>

Tentang Penulis



Noor Andryan Ilsan. Lahir di Bogor tahun 1991. Jenjang Pendidikan S1 ditempuh di Pendidikan Biologi, Universitas Negeri Jakarta, lulus tahun 2012. Pendidikan S2 Mikrobiologi di IPB University lulus pada tahun 2016. Kemudian melanjutkan studi S3 pada jurusan International Ph.D Program in Medicine, College of Medicine di Taipei Medical University, Taiwan. Saat ini aktif mengajar sebagai dosen Bakteriologi, Mikologi dan Virologi di Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis dan Prodi S1 Farmasi STIKes Mitra Keluarga. Bidang penelitian yang digeluti penulis adalah mikrobiologi klinis, resistensi antibiotik, dan juga pengembangan model deteksi infeksi bakteri. Penulis terbuka jika terdapat hal untuk didiskusikan di email noor.andryan@stikesmitrakeluarga.ac.id.

BAB 4

MIKROFLORA NORMAL

A. Pendahuluan

Mikroflora normal merupakan istilah yang paling sering digunakan ketika mengacu pada kumpulan mikroba yang secara konsisten hidup pada tubuh manusia ataupun hewan yang sehat. Perlu diketahui ada istilah lain yang digunakan seperti 'komensal', 'flora normal' dan 'mikrobiota asli'. Dari istilah yang ada, istilah yang benar-benar tepat adalah 'mikrobiota asli', hal ini dikarenakan merujuk pada kumpulan makhluk mikroskopis yang asli dari tubuh. Sedangkan istilah 'Flora' dan 'mikroflora' memiliki arti yang cukup rancu dikarenakan dalam kamus bahasa flora diartikan sebagai tumbuhan sehingga terkadang mengakibatkan salah persepsi menjadi tumbuhan mikro. Komensalisme mengacu pada hubungan antara dua organisme di mana satu pasangan mendapat manfaat dari hubungan tersebut tetapi yang lain tidak memperoleh manfaat atau kerugian. Akan tetapi, mikroflora normal dengan hewan

bukanlah salah satu komensalisme, karena masing-masing pasangan saling mempengaruhi secara nyata. Banyak ilmuwan lebih memilih penggunaan 'mikrobiota asli' karena lebih tepat daripada alternatifnya (Tannock, 1999).

Mikroflora normal disebut juga sebagai kumpulan dari berbagai macam mikroorganisme yang ada di tubuh semua manusia maupun hewan. Organisme ini secara berkelanjutan tersedia, serta relatif stabil, yang mana hidup pada bagian tubuh tertentu selama periode tertentu dalam kehidupan individu, mulai dari setelah lahir hingga meninggal. Mikrobiota normal asli memberikan garis pertahanan pertama melawan patogen mikroba, membantu pencernaan, dan berkontribusi pada pematangan sistem kekebalan tubuh dan umumnya dapat membantu anatomi, fisiologi, dari serangan patogen, dan bahkan morbiditas dari suatu inang yang selanjutnya berdampak pada homeostasis pada tubuh. Beberapa faktor internal seperti usia dan faktor eksternal seperti letak geografis, pola makan, kondisi stres, infeksi bahkan konsumsi antibiotik, merupakan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi fungsi mikroflora normal (Dekaboruah, et al., 2020; Sunarti, 2022).

Pada manusia, saat pertama ia dilahirkan maka saat itu pula ia akan terpapar oleh mikroflora normal melalui jalan persalinan; dengan kata lain, paparan awal diperoleh dari ibu (Salerian, 2020). Mikroflora normal pada bayi memiliki fungsi serta berkontribusi pada kesehatannya di masa yang akan datang serta kemunculan awalnya ditentukan oleh pertukaran mikrobiota ibu terhadap anak-anaknya (Mueller, et al., 2015). Sebenarnya di dalam rahim, janin itu steril, akan tetapi saat air ketuban ibu pecah dan proses kelahiran dimulai, maka paparan mikroflora normal itu akan mulai terjadi. Kedua, pada episode kehidupan selanjutnya, metode perawatan

neonatal, misalnya, penanganan dan pemberian makan bayi segera setelah lahir, mengarah pada pembentukan flora normal yang permanen dan stabil pada kulit, rongga mulut, dan saluran usus di sekitar dua hari pertama pasca melahirkan. Proses ini dipengaruhi oleh beberapa kondisi, misalnya operasi caesar, antibiotik perinatal, dan juga praktik pemberian susu formula, yang dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit metabolik dan imun (Mueller, et al., 2015).

Mikroflora normal memiliki keterlibatan spatio-temporal yang berbeda secara individual, bagian tubuh, umur, lokasi geografis, habitat, kondisi kesehatan, pola makan dan juga berdasarkan jenis inang (Hamady, et al., 2009; Chen, et al., 2021; Lloyd, et al., 2016).

B. Mikroflora Normal Pada Bagian Tubuh

1. Mikroflora Normal Bagian Mulut

Mikroflora normal yang ditemukan di mulut bisa berbeda berdasarkan lokasi seperti pada bagian air liur, lidah, enamel gigi, permukaan gusi dan pada kondisi saat adanya peradangan gusi (Aas, et al., 2005; Willis & Gabaldon, 2020; Sharma, et al., 2018). Komposisi mikroflora normal di rongga mulut membawa spektrum mikroorganisme yang luas, yang dominan adalah bakteri anaerob seperti *Arachnia*, *Lactobacillus*, *Leptotrichia*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Selenomonas*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Treponema*, *Propionibacterium*, dan *Veillonella* (Willis & Gabaldon, 2020; Sharma, et al., 2018; Deo & Deshmukh, 2019).

Lebih dari 700 spesies atau filotipe bakteri, yang mana lebih dari 50% belum dibudidayakan, telah terdeteksi di rongga mulut.

Sementara sampai batas tertentu, beberapa genus bersifat umum dan dapat ditemukan di sebagian besar dalam mulut, namun di sisi lain ada beberapa spesies yang ditemukan hanya ditempat yang spesifik. Ada bakteri dominan yang khas dari rongga mulut yang sehat yang sangat beragam pada bagian mulut tertentu (Dong, et al., 2018). Pada esofagus yang sehat selama prosedur endoskopi bagian atas dapat ditemukan *Streptococcus* spp (Ajayi, et al., 2018). Pada sisi lain ditemukan spesies yang umum ditemukan pada amandel anak sehat adalah *Streptococcus* α -hemolitik dan *Lactobacilli* (Choi, et al., 2020). Sebuah fenomena menarik yang terjadi dimana spesies *Lactobacillus*. dapat menempel secara khusus pada reseptor pembawa manosa, misalnya, *L. plantarum*, memiliki kenyamanan yang nyata dalam menahan diri mereka di rongga mulut melalui *gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase* (GAPDH) di sana dengan bantuan adhesi ke sel epitel, dan ini dianggap penting bagi *Lactobacillus* untuk mengerahkan efek probiotiknya (Wang, et al., 2018).

Upaya untuk membandingkan hasil dari pembuatan profil mikroflora yang dominan cukup sulit untuk ditafsirkan karena variasi intrinsik dari (1) subjek seperti, usia, jenis kelamin, etnis (Choi, et al., 2020), (2) metode pengambilan sampel dengan cara pembilasan permukaan, aspirasi maupun dengan cara biopsi (Jo, et al., 2019; Inggala, et al., 2018; Singh, et al., 2017), (3) pola makan dengan diet harian yang beragam (Leeming, et al., 2019; Singh, et al., 2017), (4) pengambilan sampel pada lokasi dan teknik pengujian mikrobiologis yang digunakan (Tang, et al., 2020). Keempatnya dapat menghasilkan hasil yang berbeda secara signifikan bahkan tanpa terkecuali pada individu yang sama, keragaman relatif dari flora normal mikroba dapat berbeda (Eckburg, et al., 2005). Perbedaan tersebut disebabkan oleh perubahan karena (1) pola

makan (Leeming, et al., 2019), (2) tingkat stres-depresi pada setiap individu (Zhu, et al., 2022), (3) kebiasaan seksual (Plummer, et al., 2019), (4) pengobatan farmakologi (Ramirez, et al., 2020), (5) perubahan hormonal (Song, et al., 2020) dan (6) faktor manusia itu sendiri (Chen, et al., 2021).

2. Mikroflora Normal Bagian Saluran Pernapasan Atas

Saluran pernapasan bagian atas manusia sudah terpapar mikroflora sejak awal kehidupan (Koppen, et al., 2015). Komposisi mikroflora dibentuk oleh berbagai macam organisme khusus (bisa berupa bakteri, virus atau bermacam-macam jamur, yang mencegah potensi patogen apa pun untuk berkolonisasi, berkembang biak, dan bahkan menyebar ke paru-paru melalui penghalang darah (Dickson, et al., 2016). Mikroflora pernapasan normal meliputi *Candida albicans*, *Diphtheroids*, *Neisseria catarrhalis*, *Streptococci alfa-hemolitik*, dan beberapa *stafilokokus* (Welp & Bomberger, 2020; Man, et al., 2017). Saat bayi baru lahir lahir, komposisi mikroflora normal pada jaringan sangat dinamis. Hal tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor internal maupun eksternal, termasuk cara kelahiran, metode pemberian makan, riwayat vaksinasi. Faktor lingkungan juga turut andil dalam hal ini seperti siklus musiman, agen patogen dan kebiasaan seperti merokok bisa berpengaruh dan merubah jumlah serta keragaman mikroflora yang ada (Man, et al., 2017).

Keberadaan mikroflora pernapasan tidak statis dan dipengaruhi oleh beberapa elemen inang dan lingkungan, termasuk kelahiran alami atau caesar, pola makan, konsumsi antibiotik dan kondisi berkerumun, misalnya kehadiran penitipan anak dan atau kehadiran saudara kandung (Gupta, et al., 2017; Man, et al., 2017). Setiap dokter harus ingat bahwa keberadaan mikroflora pada saluran

pernapasan atas yang normal adalah hal yang umum dan untuk memastikan dalam hal indikasi harus dilakukan pemeriksaan dalam kultur sputum (Man, et al., 2017; Nardone, et al., 2015).

3. Mikroflora Normal Bagian Organ Pencernaan

Lebih sedikit bakteri yang berhasil diidentifikasi pada lambung karena lingkungannya yang keras bagi banyak organisme; di mana hanya organisme tertentu yang memiliki kemampuan bertahan hidup di sana (Nardone, et al., 2015). Lima filum utama telah terdeteksi di lambung: Firmicutes, Bacteroidites, Actinobacteria, Fusobacteria dan Proteobakteri. Pada umumnya lambung manusia yang sehat didominasi oleh *Prevotella*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Rothia* dan *Haemophilus* (Nardone, et al., 2015).

Usus berbeda dengan lambung, karena kualitas dan kuantitas jumlah organisme yang mereka miliki. Berbagai organisme juga multikomplek, kebanyakan dijumpai mikroorganisme anaerob daripada organisme aerob (Shin, et al., 2019; Friedman, et al., 2018). Sebuah penelitian menemukan bahwa jumlah flora normal mikroba usus sebanyak 1011 organisme dalam 1gram feses; serta jumlah tersebut terbentuk karena adanya komposisi yang sangat beragam (>500 spesies yang berbeda), dengan masing-masing jumlahnya berkisar dalam konsentrasi yang berbeda (Thusby & Juge, 2017).

4. Mikroflora Normal Bagian Vagina

Pada penelitian sebelumnya telah diketahui komposisi mikroflora normal pada vagina yang sehat. Biasanya merupakan kombinasi kompleks dari *Lactobacillus spp.* aerobik, termasuk *L. acidophilus*, *L. jensenii*, atau *L. rhamnosus*. Beberapa spesies Lactobacilli, yaitu *L. acidophilus*, *L. crispatus* dan *L. jensenii*, berperan

penting dalam melindungi permukaan vagina dengan mengeluarkan H_2O_2 (Chen, et al., 2021; Chee, et al., 2020). Senyawa asam ini mencegah kolonisasi anaerob patogen dan serangan dari Mycoplasma (Tachedjian, et al., 2018; Choi, et al., 2022). Selain mencegah kolonisasi, itu juga menghambat replikasi mereka. Asam laktat memblokir enzim *histone deacetylases*, sehingga memperbesar proses transkripsi gen dan juga restorasi DNA. Keberadaan patogen potensial ini sebagian besar terkait dengan infeksi vagina seperti vaginitis bakteri non-spesifik, *Neisseria gonorrhoea* atau jenis penyakit menular seksual lainnya (Choi, et al., 2022).

Jumlah dan komposisi mikroflora vagina sangat dinamis (Alhabardi, et al., 2021). Telah terbukti berfluktuasi selama (1) usia (masa kanak-kanak, remaja, dewasa muda, tua). (2) siklus haid rutin. (3) aktivitas seksual (aktif-pasif, pergaulan bebas). (4) kebiasaan kebersihan. (5) kebiasaan terkait mode, dan (6) praktik penggunaan mikrobisida intravaginal, misalnya nonoksinol-4 (Auriemma, et al., 2021). Terkait dengan dinamika kehadiran mikroflora vagina yang disebutkan sebelumnya, penelitian mengkonfirmasi bahwa sebagian besar wanita dalam kondisi sehat memiliki perubahan komposisi flora vagina jangka pendek, yang meskipun tidak permanen, dapat menyebabkan perubahan lingkungan mikro lokal (Auriemma, et al., 2021). Hanya sebagian kecil (22-26%) wanita sehat yang mengandung flora predominan laktobasilus. Perilaku pribadi, fungsi biologis termasuk hormon dan atau kondisi eksternal lainnya mungkin berkontribusi pada pola dinamis mikroflora vagina (Amabebe & Anumba, 2018).

Perjalanan evolusi flora normal adalah episode berkesinambungan sepanjang hayat yang dimulai segera pada proses kelahiran (Miller, et al., 2016). Diyakini bahwa proses

kolonisasi dimulai selama persalinan, pada saat usus neonatus ditanami dengan sebagian besar anaerob fakultatif Gram-positif dari mikroflora vagina ibu pada saat persalinan normal (Dominguez-Bello, 2010). Kontak dekat sekali lagi bertanggung jawab atas masuknya mikroflora normal ke bayi baru lahir. Mikroflora vagina yang dikumpulkan dari ibu tepat setelah melahirkan memiliki komposisi yang sama dengan mikroflora yang ditemukan pada tinja neonatus (Dong, et al., 2015).

C. Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Keberadaan Mikroflora Normal

1. Faktor Usia

Mikrobiota kulit juga sangat beragam dan bervariasi pada kelompok umur yang berbeda (Shibagaki, et al., 2017). Keanekaragaman mikrobiota kulit cenderung meningkat seiring bertambahnya usia (Kim, et al., 2020). Peningkatan keragaman selama delapan tahun pertama kehidupan dikaitkan dengan berkurangnya dominasi ordo Lactobacillales yaitu *Streptococcus thermophilus* dan peningkatan taksa lain yang relatif merata, sedangkan penurunan keragaman pada pubertas disebabkan oleh Actinobacteria seperti *Propionibacterium acnes* menjadi dominan (Lehtimäki, et al., 2017). Dalam kasus masa awal bayi yang baru lahir, mikro-ekologi usus dibangun selama fase awal kehidupan oleh komposisi mikroflora usus normal. Pola makan pada bayi yang belum disapih sebagian besar dipengaruhi oleh jenis makanan sehari-hari seperti asi dan susu formula. Bayi biasanya hanya dihuni oleh tiga jenis Lactobacilli asli, dan ketika bertambah dewasa, terjadi peningkatan baik jumlah spesies yang berbeda maupun sifat

sementara. Mikroflora usus normal pada geriatri mungkin juga berbeda dari dewasa muda (Badal, et al., 2020). Mengenai mikroflora genito-kemih, tampaknya wanita pascamenopause ditemukan memiliki jumlah mikroorganisme yang lebih tinggi seperti jamur, clostridia dan laktobasilus dibandingkan dengan kelompok pra-menopause (Chee, et al., 2020; Amabebe & Anumba, 2018; Miller, et al., 2016). Studi lain juga mengungkapkan variasi mikroflora normal pada wanita usia yang lebih tua, tetapi apakah variasi ini disebabkan oleh usia kronologis, paparan medis, atau karena penyakit masih belum jelas.

2. Faktor Lingkungan

Ada beberapa penelitian yang melaporkan perbedaan mikroflora normal tergantung pada lingkungan geografis (Gupta, et al., 2017). Diketahui ada penelitian pada lansia Jepang yang tinggal di wilayah perkotaan dengan pedesaan secara keseluruhan, keragaman dan jumlah mikroflora pada tinja hampir sama hanya saja orang perkotaan memiliki *Bifidobacterium* teenis yang jauh lebih sedikit, tetapi secara signifikan lebih banyak bakteri anaerob total, *bacilli* dan *Clostridium* spp. Dibandingkan dengan yang tinggal di pedesaan. Perbedaan yang relatif kecil ini mungkin disebabkan oleh pola makan yang berbeda seperti jumlah asupan serat pada makanan yang dimakan oleh penduduk pedesaan, walaupun dugaan ini tidak sejalan dengan data pola makan. Studi terbaru telah mengklarifikasi pemisahan kritis dalam komposisi mikroflora antara orang sehat dari ras dan etnis yang berbeda (Gupta, et al., 2017).

Perbedaan lingkungan geografis pada komposisi dan keragaman mikroflora normal yang dilaporkan pada populasi tertentu sebenarnya bukan berasal dari genetik, seperti yang diperkirakan

sebelumnya, namun hal tersebut karena variasi komposisi dari pola makan dan jenis makanan (Lozupone, et al., 2012). Mikroflora usus bervariasi sesuai dengan lingkungan tubuh. Berbagai faktor mempengaruhi mikroflora rongga mulut dan usus. Misalnya, ketika mikroflora usus dibandingkan dengan pria Inggris yang tinggal di London dan mengonsumsi campuran makanan barat dengan orang Uganda dari lingkungan yang sama tetapi hanya mengonsumsi makanan vegetarian, dan ketika sampel feses dianalisis dan hasilnya adalah sebagai berikut: orang Inggris memiliki lebih banyak *Bifidobacteria* dan *Bacteroides* tetapi lebih sedikit *Enterococci*, *Lactobacilli* dan bahkan ragi dibandingkan dengan orang Uganda, walaupun semua sampel dikumpulkan dalam waktu yang hampir bersamaan. Konsumsi makanan vegetarian rutin dan harian terkait dengan jumlah anaerob yang lebih sedikit dan pencacahan mikroba fakultatif dan aerobik yang lebih tinggi (Tomova, et al., 2019).

Diyakini bahwa, satu orang memiliki profil mikroorganisme yang cukup persisten baik dari segi kualitatif maupun kuantitatif yang dapat dianggap sebagai 'mikroflora normal. Perlu diketahui bahwa konsumsi antibiotik dapat mempengaruhi komposisi mikroflora normal. Kadang-kadang, perbedaan mikroflora normal antar individu dapat berubah sampai batas tertentu. Perbandingan perbedaan komposisi mikroflora normal untuk berbagai populasi geografis diperumit oleh perbedaan tak terbatas dalam hal (1) karakteristik populasi, (2) makanan sehari-hari, (3) teknik isolasi dan budidaya, (4) teknologi canggih yang diterapkan dan (5) Waktu saat penelitian dilakukan.

3. Faktor Pola Makan

Bukti bahwa pola konsumsi mempengaruhi flora normal pada orang dewasa masih jarang, tetapi banyak penelitian telah dilakukan

pada populasi tertentu, misalnya pada bayi yang baru lahir dan juga hewan (De Filippo, et al., 2010; Gehrig, et al., 2019). Data dari penelitian pada hewan menunjukkan kepada kita bahwa pola makan telah terbukti mengubah komposisi dan jumlah mikroflora, namun sayangnya, data yang tersedia hanya terbatas pada pemberian mineral kalsium, karbohidrat atau serat dan efek langsung atau tidak langsungnya terhadap mikroflora normal. Kalsium makanan sehari-hari cenderung mengendap dan menginduksi zat sitotoksik, misalnya asam empedu, menyebabkan berkurangnya sitolisis; suatu kondisi perubahan yang ditimbulkan oleh konsumsi inulin dan galakto-oligosakarida (Fuhren, et al., 2021). Diet suplementasi kalsium yang diberikan pada model hewan (tikus) sebenarnya mengurangi populasi *Salmonella enteritidis* di usus mereka (Bovee-Oudenhoven, et al., 2003). Jenis makanan secara dominan yang dapat mempengaruhi komposisi mikroflora pada neonatus prapapah, Bayi yang diberi ASI mengandung jumlah *Bifidobacteria* yang lebih tinggi (Ma, et al., 2020).

Secara biokimia, ASI biasanya mengandung sedikit protein dan sebaliknya oligosakarida dan glikoprotein yang tinggi, yang memfasilitasi pertumbuhan *Bifidobacteria* (Martin, et al., 2016). Sebaliknya, beberapa penelitian menegaskan bahwa bayi yang diberi susu formula memiliki mikroflora yang lebih canggih, yaitu *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., dan *Streptococcus* spp.; meskipun perbedaan bayi yang diberi ASI vs bayi yang diberi susu formula tidak terlalu signifikan (Wang, et al., 2020). Jumlah *Bifidobacteria* yang lebih tinggi ditemukan pada bayi yang diberi susu formula hanya terjadi pada susu buatan pabrik yang memiliki besaran buffering yang kecil. Kontribusi flora normal terhadap fungsi normal usus dapat diringkas sebagai berikut: (1) Mencerna

substrat metabolik enterik, (2) Melawan kolonisasi mikroflora asing non-sendiri, (3) Perakitan vitamin, (4) Pengembangan situs perlekatan, (5) Memfasilitasi sistem kekebalan tubuh, memproduksi enzim eksogen, memfasilitasi transit intraluminal, (6) Memajukan dan membalikkan sel-sel usus tertentu.

4. Faktor adanya Infeksi

Adanya mikroflora normal sebenarnya juga membantu inangnya agar tidak mudah terkolonisasi dan terinfeksi parasit enteral (Mumcuoğlu, 2019). Parasit biasanya masuk ke dalam tubuh melalui jalur feses oral dan berinteraksi langsung dengan bakteri komensal usus dan menyebabkan diare (Mumcuoğlu, 2019; Maryanti, et al., 2017). Infeksi mungkin memiliki manifestasi klinis yang jelas, tetapi diduga ada lebih banyak infeksi parasit usus tanpa gejala (Maryanti, et al., 2017). Mikroflora normal dapat meningkatkan resistensi terhadap infeksi parasit di situs mukosa melalui perubahan komposisi bakteri usus, dan juga dapat mengubah kekebalan sistemik terhadap parasit ini (Mumcuoğlu, 2019).

5. Faktor Stress

Kondisi stres secara psikologis dan depresi lebih lanjut sampai batas tertentu dapat memicu konsumsi makanan yang tidak terkontrol, yang secara langsung mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan mikroflora (Madison & Kiecolt-Glaser., 2019). Selain itu, stres dan depresi dapat membentuk kembali jumlah dan komposisi mikroflora normal melalui tiga cara: (1) Sekresi hormon stres yang berlebihan, (2) Inisiasi peradangan, dan (3) Perubahan otonom yang tidak terkontrol yang selanjutnya dapat memicu serangkaian peristiwa yang dapat membuat kondisi menjadi lebih

buruk. Akibatnya, bakteri usus melepaskan lebih banyak zat produk akhir, toksin, metabolit, dan bahkan hormon saraf yang selanjutnya dapat mengubah perilaku makan dan bahkan nafsu makan serta suasana hati secara umum (Madison & Kiecolt-Glaser., 2019; Galland, 2014). Beberapa spesies bakteri juga memiliki kemampuan memfasilitasi disregulasi makan berlebihan, atau dengan kata lain makan sangat banyak (Clapp, et al., 2017). Bakteri usus juga dapat merangsang respons terhadap stres dengan menurunkan ambang batas dan pada gilirannya meningkatkan risiko depresi, yang menambahkan suplemen probiotik dapat melemahkan kondisi tersebut (Madison & Kiecolt-Glaser., 2019; Galland, 2014; Clapp, et al., 2017).

D. Kesimpulan

Mikroflora normal dapat diartikan sebagai kumpulan dari mikroorganisme seperti bakteri, zat renik, jamur yang merupakan penghuni tetap dari bagian-bagian tubuh tertentu seperti mulut, saluran pernapasan, organ pencernaan, vagina dll. Mikroflora normal dipengaruhi oleh usia, lingkungan, pola makan, infeksi, dan tingkat stress pada individu.

Daftar Pustaka

Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of clinical microbiology*, 43(11), 5721-5732.

- Ajayi, T. A., Cantrell, S., Spann, A., & Garman, K. S. (2018). Barrett's esophagus and esophageal cancer: Links to microbes and the microbiome. *PLoS pathogens*, 14(12), e1007384.
- Alhabardi, S. M., Edris, S., Bahieldin, A., & Al-Hindi, R. R. (2021). The composition and stability of the vaginal microbiome of healthy women. *Journal of the Pakistan Medical Association*, 71(8), 2045-2051.
- Amabebe, E., & Anumba, D. O. (2018). The vaginal microenvironment: the physiologic role of lactobacilli. *Frontiers in medicine*, 5, 181.
- Auriemma, R. S., Sciarati, R., Del Vecchio, G., Liccardi, A., Verde, N., Pirchio, R., ... & Colao, A. (2021). The vaginal microbiome: a long urogenital colonization throughout woman life. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 613.
- Badal, V. D., Vaccariello, E. D., Murray, E. R., Yu, K. E., Knight, R., Jeste, D. V., & Nguyen, T. T. (2020). The gut microbiome, aging, and longevity: a systematic review. *Nutrients*, 12(12), 3759.
- Benno, Y., Endo, K., Mizutani, T., Namba, Y., Komori, T., & Mitsuoka, T. (1989). Comparison of fecal microflora of elderly persons in rural and urban areas of Japan. *Applied and environmental microbiology*, 55(5), 1100-1105.
- Bovee-Oudenhoven, I. M. J., Ten Bruggencate, S. J. M., Lettink-Wissink, M. L. G., & Van der Meer, R. (2003). Dietary fructo-oligosaccharides and lactulose inhibit intestinal colonisation but stimulate translocation of salmonella in rats. *Gut*, 52(11), 1572-1578.
- Chee, W. J. Y., Chew, S. Y., & Than, L. T. L. (2020). Vaginal microbiota and the potential of *Lactobacillus* derivatives in maintaining vaginal health. *Microbial cell factories*, 19(1), 1-24.
- Chen, L., Wang, D., Garmaeva, S., Kurilshikov, A., Vila, A. V., Gacesa, R., ... & Lifelines Cohort Study. (2021). The long-term genetic stability and individual specificity of the human gut microbiome. *Cell*, 184(9), 2302-2315.

- Chen, L., Wang, D., Garmaeva, S., Kurilshikov, A., Vila, A. V., Gacesa, R., ... & Lifelines Cohort Study. (2021). The long-term genetic stability and individual specificity of the human gut microbiome. *Cell*, 184(9), 2302-2315.
- Chen, X., Lu, Y., Chen, T., & Li, R. (2021). The female vaginal microbiome in health and bacterial vaginosis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 271.
- Choi, D. H., Park, J., Choi, J. K., Lee, K. E., Lee, W. H., Yang, J., ... & Park, Y. S. (2020). Association between the microbiomes of tonsil and saliva samples isolated from pediatric patients subjected to tonsillectomy for the treatment of tonsillar hyperplasia. *Experimental & molecular medicine*, 52(9), 1564-1573.
- Choi, S. I., Won, G., Kim, Y., Kang, C. H., & Kim, G. H. (2022). Lactobacilli Strain Mixture Alleviates Bacterial Vaginosis through Antibacterial and Antagonistic Activity in Gardnerella vaginalis-Infected C57BL/6 Mice. *Microorganisms*, 10(2), 471.
- Clapp, M., Aurora, N., Herrera, L., Bhatia, M., Wilen, E., & Wakefield, S. (2017). Gut microbiota's effect on mental health: The gut-brain axis. *Clinics and practice*, 7(4), 987.
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., ... & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33), 14691-14696.
- Dekaboruah, E., Suryavanshi, M. V., Chettri, D., & Verma, A. K. (2020). Human microbiome: an academic update on human body site specific surveillance and its possible role. *Archives of microbiology*, 202(8), 2147-2167.
- Deo, P. N., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*, 23(1), 122.

- Dickson, R. P., Erb-Downward, J. R., Martinez, F. J., & Huffnagle, G. B. (2016). The microbiome and the respiratory tract. *Annual review of physiology*, 78, 481.
- Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(26), 11971-11975.
- Dong, L., Yin, J., Zhao, J., Ma, S. R., Wang, H. R., Wang, M., ... & Wei, W. Q. (2018). Microbial similarity and preference for specific sites in healthy oral cavity and esophagus. *Frontiers in microbiology*, 9, 1603.
- Dong, X. D., Li, X. R., Luan, J. J., Liu, X. F., Peng, J., Luo, Y. Y., & Liu, C. J. (2015). Bacterial communities in neonatal feces are similar to mothers' placentae. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 26(2), 90-94.
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., ... & Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *science*, 308(5728), 1635-1638.
- Friedman, E. S., Bittinger, K., Esipova, T. V., Hou, L., Chau, L., Jiang, J., ... & Wu, G. D. (2018). Microbes vs. chemistry in the origin of the anaerobic gut lumen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(16), 4170-4175.
- Führen, J., Schwalbe, M., Boekhorst, J., Rösch, C., Schols, H. A., & Kleerebezem, M. (2021). Dietary calcium phosphate strongly impacts gut microbiome changes elicited by inulin and galacto-oligosaccharides consumption. *Microbiome*, 9(1), 1-17.
- Galland, L. (2014). The gut microbiome and the brain. *Journal of medicinal food*, 17(12), 1261-1272.
- Gehrig, J. L., Venkatesh, S., Chang, H. W., Hibberd, M. C., Kung, V. L., Cheng, J., ... & Gordon, J. I. (2019). Effects of

- microbiota-directed foods in gnotobiotic animals and undernourished children. *Science*, 365(6449), eaau4732.
- Gupta, V. K., Paul, S., & Dutta, C. (2017). Geography, ethnicity or subsistence-specific variations in human microbiome composition and diversity. *Frontiers in microbiology*, 8, 1162.
- Hamady, M., & Knight, R. (2009). Tools, techniques, and challenges Microbial community profiling for human microbiome projects. *Genome Res*, 19, 1141-1152.
- Ingala, M. R., Simmons, N. B., Wultsch, C., Krampis, K., Speer, K. A., & Perkins, S. L. (2018). Comparing microbiome sampling methods in a wild mammal: fecal and intestinal samples record different signals of host ecology, evolution. *Frontiers in Microbiology*, 9, 803.
- Jo, R., Nishimoto, Y., Umezawa, K., Yama, K., Aita, Y., Ichiba, Y., ... & Fukuda, S. (2019). Comparison of oral microbiome profiles in stimulated and unstimulated saliva, tongue, and mouth-rinsed water. *Scientific reports*, 9(1), 1-7.
- Kim, M., Park, T., Yun, J. I., Lim, H. W., Han, N. R., & Lee, S. T. (2020). Investigation of age-related changes in the skin microbiota of Korean women. *Microorganisms*, 8(10), 1581.
- Koppen, I. J., Bosch, A. A., Sanders, E. A., van Houten, M. A., & Bogaert, D. (2015). The respiratory microbiota during health and disease: a paediatric perspective. *Pneumonia*, 6(1), 90-100.
- Leeming, E. R., Johnson, A. J., Spector, T. D., & Le Roy, C. I. (2019). Effect of diet on the gut microbiota: rethinking intervention duration. *Nutrients*, 11(12), 2862.
- Lehtimäki, J., Karkman, A., Laatikainen, T., Paalanen, L., von Hertzen, L., Haahela, T., ... & Ruokolainen, L. (2017). Patterns in the skin microbiota differ in children and teenagers between rural and urban environments. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.
- Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., & Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Med* 8: 51.

- Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220-230.
- Ma, J., Li, Z., Zhang, W., Zhang, C., Zhang, Y., Mei, H., ... & Wu, D. (2020). Comparison of gut microbiota in exclusively breast-fed and formula-fed babies: A study of 91 term infants. *Scientific reports*, 10(1), 1-11.
- Madison, A., & Kiecolt-Glaser, J. K. (2019). Stress, depression, diet, and the gut microbiota: human–bacteria interactions at the core of psychoneuroimmunology and nutrition. *Current opinion in behavioral sciences*, 28, 105-110.
- Man, W. H., de Steenhuijsen Piters, W. A., & Bogaert, D. (2017). The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nature Reviews Microbiology*, 15(5), 259-270.
- Martin, C. R., Ling, P. R., & Blackburn, G. L. (2016). Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula. *Nutrients*, 8(5), 279.
- Maryanti, E., Lesmana, S. D., & Mandela, H. (2017). Deteksi Protozoa Usus Oportunistik pada Penderita Diare Anak di Puskesmas Rawat Inap Pekanbaru. *Jurnal Ilmu Kedokteran (Journal of Medical Science)*, 9(1), 22-26.
- Miller, E. A., Beasley, D. E., Dunn, R. R., & Archie, E. A. (2016). Lactobacilli dominance and vaginal pH: why is the human vaginal microbiome unique?. *Frontiers in microbiology*, 7, 1936.
- Mueller, N. T., Bakacs, E., Combellick, J., Grigoryan, Z., & Dominguez-Bello, M. G. (2015). The infant microbiome development: mom matters. *Trends in molecular medicine*, 21(2), 109-117.
- Mumcuoğlu, İ. (2019). Interactions between parasites and human microbiota.
- Nardone, G., & Compare, D. (2015). The human gastric microbiota: Is it time to rethink the pathogenesis of stomach

- diseases?. United European gastroenterology journal, 3(3), 255-260.
- Plummer, E. L., Vodstrcil, L. A., Fairley, C. K., Tabrizi, S. N., Garland, S. M., Law, M. G., ... & Bradshaw, C. S. (2019). Sexual practices have a significant impact on the vaginal microbiota of women who have sex with women. *Scientific reports*, 9(1), 1-14.
- Ramirez, J., Guarner, F., Bustos Fernandez, L., Maruy, A., Sdepanian, V. L., & Cohen, H. (2020). Antibiotics as major disruptors of gut microbiota. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 572912.
- Salerian, A. J. (2020). What is the origin of human bacterial flora. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 8(1), 1-5.
- Sharma, N., Bhatia, S., Sodhi, A. S., & Batra, N. (2018). Oral microbiome and health. *AIMS microbiology*, 4(1), 42.
- Shibagaki, N., Suda, W., Clavaud, C., Bastien, P., Takayasu, L., Ioka, E., ... & Hattori, M. (2017). Aging-related changes in the diversity of women's skin microbiomes associated with oral bacteria. *Scientific reports*, 7(1), 1-10.
- Shin W, Wu A, Massidda MW, Foster C, Thomas N, Lee DW, et al. A Robust Longitudinal Co-culture of Obligate Anaerobic Gut Microbiome With Human Intestinal Epithelium in an Anoxic-Oxic Interface-on-a-Chip. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019;7:13.
- Singh, R. K., Chang, H. W., Yan, D. I., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., ... & Liao, W. (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal of translational medicine*, 15(1), 1-17.
- Song SD, Acharya KD, Zhu JE, Deveney CM, Walther-Antonio MR, Marina RS, et al. Daily Vaginal Microbiota Fluctuations Associated with Natural Hormonal Cycle, Contraceptives, Diet, and Exercise. *mSphere*. 2020;5(4).

- Sunarti, L. S. (2022). Microbial Normal Flora: Its Existence And Their Contribution To Homeostasis. *Journal of Advances in Microbiology*, 22(9), 1-15.
- Tachedjian, G., O'Hanlon, D. E., & Ravel, J. (2018). The implausible “in vivo” role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. *Microbiome*, 6(1), 1-5.
- Tang, Q., Jin, G., Wang, G., Liu, T., Liu, X., Wang, B., & Cao, H. (2020). Current sampling methods for gut microbiota: a call for more precise devices. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 151.
- Tannock, G. W. (1999). The normal microflora: an introduction. In *Medical importance of the normal microflora* (pp. 1-23). Springer, Boston, MA.
- Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical journal*, 474(11), 1823-1836.
- Tomova, A., Bukovsky, I., Rembert, E., Yonas, W., Alwarith, J., Barnard, N. D., & Kahleova, H. (2019). The effects of vegetarian and vegan diets on gut microbiota. *Frontiers in nutrition*, 6, 47.
- Wang, G., Zhang, M., Zhao, J., Xia, Y., Lai, P. F. H., & Ai, L. (2018). A surface protein from *Lactobacillus plantarum* increases the adhesion of lactobacillus strains to human epithelial cells. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2858.
- Wang, Z., Neupane, A., Vo, R., White, J., Wang, X., & Marzano, S. Y. L. (2020). Comparing gut microbiome in mothers' own breast milk-and formula-fed moderate-late preterm infants. *Frontiers in microbiology*, 11, 891.
- Welp, A. L., & Bomberger, J. M. (2020). Bacterial community interactions during chronic respiratory disease. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 213.
- Willis, J. R., & Gabaldón, T. (2020). The human oral microbiome in health and disease: from sequences to ecosystems. *Microorganisms*, 8(2), 308.

Zhu, F., Tu, H., & Chen, T. (2022). The Microbiota–Gut–Brain Axis in Depression: The Potential Pathophysiological Mechanisms and Microbiota Combined Antidepressant Effect. *Nutrients*, 14(10), 2081.

Tentang Penulis



Febry Istyanto. adalah PNS Dosen Kementerian Kesehatan bidang Epidemiologi dan Biostatistik di Poltekkes Kemenkes Jayapura. Lulus dari Pendidikan

nto

D-III Analisis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Bandung pada tahun 2014, S-1 Kesehatan Masyarakat jurusan Epidemiologi di Universitas Jenderal Achmad Yani tahun 2016, S-2 Kesehatan Masyarakat jurusan Epidemiologi dan Biostatistika di Universitas Sebelas Maret (UNS) tahun 2019. Sebelum menjadi PNS Dosen beliau merupakan dosen di kampus swasta di Jawa Tengah dan Jawa Timur, beliau juga merupakan salah satu konsultan utama dibidang pengolahan data Kesehatan bagi mahasiswa D-III hingga S-3 dan merupakan penulis buku “Konsep Dasar Epidemiologi” yang berjumlah hampir 800 halaman dengan nomor HKI: 000261395 dan “Buku Kompetensi Pembahasan Soal Epidemiologi Malaria” dengan ISBN 978-623-427-053-2. Penulis dapat dihubungi melalui email: febryistyanto@gmail.com dan wa: 082133452012.

BAB 5

BAKTERI PATOGEN GRAM (+) KOKUS

A. Pendahuluan

Bakteri patogen gram positif kokus terdiri dari bakteri dalam kelompok stafilocokus, streptokokus dan enterokokus. Bakteri ini merupakan bakteri yang memiliki morfologi bentuk bulat terdapat dinding sel yang tebal, mengandung lapisan peptidoglikan yang tebal, polisakarida, asam teikoat dan protein. Bakteri gram positif kokus umumnya sebagai flora normal tubuh manusia pada bagian kulit dan selaput lendir, namun kelompok bakteri ini beberapa diantaranya dapat menjadi oportunistik dan dapat menyebabkan patogen (Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, 2018).

Genus stafilocokus sekurang-kurangnya terdapat 30 spesies namun yang penting dalam bidang Kesehatan adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Stafilocokus memiliki enzim koagulasi yang memberikan hasil positif dalam uji plasma koagulasi. Hasil koagulasi positif menandakan bakteri patogen. Stafilocokus koagulasi negatif adalah *Staphylococcus epidermidis*, bakteri ini merupakan flora normal tubuh manusia dan dapat menyebabkan oportunistik dalam keadaan kekebalan tubuh yang menurun (Jawetz, 2020).

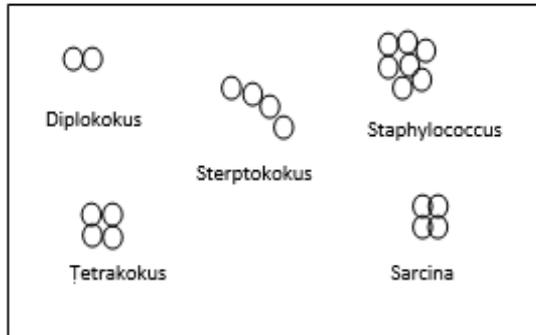
Genus streptokokus merupakan bakteri berbentuk bulat memiliki susunan seperti rantai, genus ini terdiri dari berbagai jenis spesies yang terbagi-bagi kedalam beberapa kelompok atau klasifikasi, namun pembagian klasifikasi tersebut berbeda-beda dapat berdasarkan sifat tumbuh, sifa hemolisis atau susunan antigen dan biokimia. Beberapa spesies streptokokus antarlain: bersifat beta-hemolisis *antarlain Streptococcus pyogenes* (grup A), dan *Streptococcus agalactic* (grup B). *Streptococcus equisimilis*. *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus dysgalactiae* (grup C), Enterococcus, *Streptococcus bovis* (grup D), *Streptococcus mutans* (grup E), *Streptococcus anginosus* (grup F), *Streptococcus canis*, *Streptococcus dysgalactiae* (grup H)(Jawetz, 2020). Streptokokus bersifat alpa-hemolisis yaitu *Streptococcus pneumonia* dan *Streptococcus viridans* sedangkan Streptococcus gamma-hemolisis yaitu Enterococcus atau *Streptococcus faecalis* (Leboffe & Pierce, 2011). *Streptococcus pneumonia* sering juga disebut Pneumococcus dengan karakteristik bentuk yang khas diplokokus dengan kedua ujung meruncing seperti lancet.

B. Morfologi

Bakteri patogen gram positif kokus memiliki morfologi bentuk yang berbeda, dan dapat diamati secara mikroskopik dengan mikroskop cahaya. Morfologi dan bentuk bakteri akan tampak terlihat lebih jelas jika dilakukan pewarnaan bakteri baik pewarnaan sederhana atau gram.

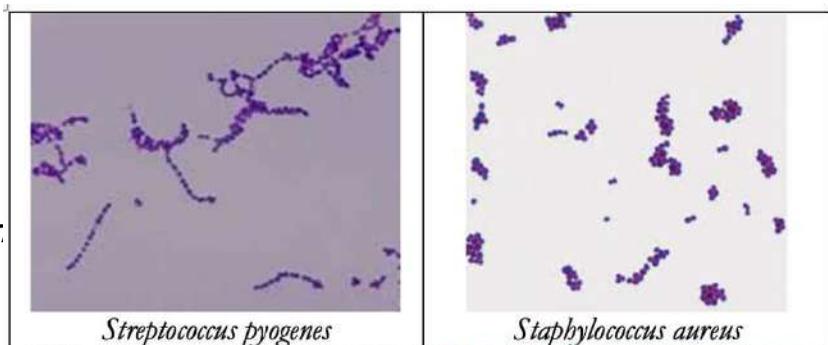
Adapun bentuk morfologi bakteri patogen gram positif kokus dapat teramati seperti pada Gambar 1.

Bakteri Patogen Gram (+) Kokus



Gambar 1. Morfologi Bakteri Gram positif Kokus

Hasil pewarnaan mikroskopik dengan teknik pewarnaan gram, bakteri patogen gram positif kokus dapat teramati berbentuk bulat seperti peluru, formasi diplokokus, bergerombol seperti buah anggur, atau berjejer seperti rantai dapat morfologi teramati seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi bentuk bakteri patogen gram positif kokus

C. Perbedaan Karakteristik

Bakteri patogen gram positif kokus memiliki karakteristik perbedaan berdasarkan morfologi koloni yang tumbuh pada beberapa media kultur dan sifat biokimia. Perbedaan tersebut dapat membantu menegakan diagnosis melalui isolasi dan identifikasi laboratorium. Adapun perbedaan karakteristik bakteri patogen gram positif kokus adalah sebagai berikut:

Karakteristik	Staphylococcus	Streptococcus	Pneumococcus
Bentuk	Kokus, bergerombol seperti anggur	Kokus, seperti rantai	Diplokokus, seperti lancet

Bakteri Patogen Gram (+) Kokus

Karakteristik	Staphylococcus	Streptococcus	Pneumococcus
Kapsul	-	-	positif
Sifat hemolisis pada Agar darah	Anhemolisis (<i>S.epidermidis</i>) Hemolisis (<i>S.aureus</i>)	Beta-hemolisis (<i>Str. pyogenes</i>) Alpa hemolisis (<i>Str. pneumonia</i>) Gamma hemolisis (<i>Str. faecalis</i>)	Alpa-hemolisis
Antibiotik	Novobiocin: Sensitive (<i>S.aureus</i> & <i>S. epidermidis</i>) Resisten (<i>S. saprophyticus</i>)	Bacitrasin : Sensitif (<i>Str. pyogenes</i>) Resisten (grup B,C dan lainnya)	Optochin : Sensitif (<i>Str. pneumonia</i>)
Katalase	Positif	Negatif	Negatif
NaCl 7,5 %	Tahan	Tidak tahan	Tidak tahan
Fermentasi manitol	Positif (<i>S.aureus</i>) Negatif (<i>S. epidermidis</i>)	positif	positif
Koagulase	Positif (<i>S. aureus</i>) Negative (<i>S.epidermidis</i>)	-	-

Karakteristik	Staphylococcus	Streptococcus	Pneumococcus
DNase test	Positif (<i>S. aureus</i>) Negative (<i>S. epidermidis</i>)	-	-
CAMP test	-	Positif (<i>Str. algalctii</i>)	-
SXT	-	Positif (<i>Str. grup C</i>)	-

Sumber : (Jawetz, 2020),(Savitri et al., 2019),(Cheung et al., 2021)

D. Penyakit

Bakteri kokus gram positif dapat menimbulkan berbagai jenis penyakit dan mengganggu terhadap kesehatan. Penyakit tersebut dapat disebabkan oleh bakteri dari kelompok stafilocokus, streptokokus dan pneumokokus. Menurut (Cheung et al., 2021) penyakit yang dapat ditimbulkan oleh stafilocokus patogen antara lain :

1. Infeksi folikel dan kulit
2. Infeksi luka, abses
3. Infeksi sendi
4. Infeksi kardiovaskular
5. Infeksi nosocomial

Penyakit yang dapat ditimbulkan oleh streptococcus antara lain :

1. Radang tenggorokan/faringitis
2. Impetigo
3. Sepsis, demam scarlet, demam reumatik
4. Meningitis
5. Karies gigi
6. Abses dengan infeksi bakteri lain

Penyakit yang ditimbulkan oleh *Streptococcus pneumoniae* atau pneumokokus adalah pneumonia, meningitis, endocarditis (Savitri et al., 2019), (Ramachandran, 2014).

E. Diagnosis Laboratorium

Dalam menegakan diagnosa penyakit yang disebabkan oleh bakteri gram positif kokus perlu ditunjang oleh pemeriksaan laboratorium, untuk keperluan penegakan diagnosa tersebut diperlukan tahapan pra analitik seperti pemilihan bahan pemeriksaan yang tepat untuk pemeriksaan, analitik yaitu menentukan metoda pemeriksaan dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tepat, serta post analitik yaitu pelaporan hasil diagnosis laboratorium (Leboffe & Pierce, 2011).

Langkah-langkah pemeriksaan laboratorium bakteri gram positif kokus dapat dilakukan tahapan sebagai berikut :

1. Pemeriksaan mikroskopik gram

Dilakukan pewarnaan gram dari bahan pemeriksaan dengan zat warna kristal violet-lugol-alkohol 96%-safranin. Hasil perwarnaan akan tampak bakteri bentuk bulat, susunan

diplokokus, rantai atau bergerombol. Berwarna ungu, bersifat gram positif (Bulele et al., 2019).

2. Kultur/Pembiakan

Kultur dilakukan pada media perbenihan sebagai berikut :

- a. **Media Cair:** *Trypticase Soya Broth* (TSB) sebagai media perbenihan untuk memperbanyak bakteri hasil isolasi dari bahan pemeriksaan.

Hasil positif pertumbuhan: kekeruhan pada media

- b. **Media Padat diperkaya:** Agar darah (AD)/*Blood Agar Plate* (BAP) merupakan media diperkaya dengan protein dari eritrosit, media ini ditambahkan darah 5-10%.

Karakteristik pertumbuhan koloni bakteri gram positif kokus pada media agar darah:

Staphylococcus:

Staphylococcus aureus: bulat, halus, cembung, diameter 2-4 mm, warna kuning emas, hemolisis.

Staphylococcus epidermidis: bulat, halus, cembung, diameter 2-4 mm, warna putih susu, anhemolisis (Gajdács et al., 2020).

Staphylococcus saprophyticus: bulat, halus, cembung, diameter 2-4 mm, warna putih/kuning jeruk, anhemolisis.

Streptococcus pyogenes: bulat, halus, cembung, diameter ≤ 1 mm, transparan, beta-hemolisis.

Streptococcus algalactic: bulat, halus, cembung, diameter ≤ 1 mm, transparan, beta-hemolisis.

Streptococcus pneumonia: bulat, halus, cembung, diameter ≤ 1 mm, transparan, alfa-hemolisis.

Streptococcus mutans: bulat, halus, cembung, diameter ≤ 1 mm, transparan, alfa-hemolisis.

Streptococcus faecalis: bulat, halus, cembung, diameter ≤ 1 mm, transparan, gamma-hemolisis.

- c. **Media padat selektif:** *Manitol Salt Agar* (MSA), media selektif MSA mengandung kadar garam yang tinggi yaitu NaCl 7.5 % mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain selain *Staphylococcus*. Media sangat baik untuk isolasi *Staphylococcus* dari bahan pemeriksaan yang mengandung banyak floranormal (J Vandepitte et al, 2003). Karakteristik bakteri *Staphylococcus* pada media MSA adalah :

Staphylococcus aureus: bulat, halus, cembung, likat, warna kuning, manitol fermenter (media berwarna kuning dengan suasana pH asam), tumbuh subur.

Staphylococcus epidermidis: bulat, halus, cembung, likat, warna putih, non manitol fermenter (media berwarna merah dengan suasana pH basa).

Kelompok bakteri streptococcus pada media ini dapat dihambat pertumbuhannya oleh zat penghambat NaCl.

3. Uji Biokimia

Tahapan uji biokimia dapat secara konvensional menggunakan media gula-gula manitol dan glukosa, bakteri *Staphylococcus aureus* fermentasi manitol (+), *Staphylococcus epidermidis* (+) atau (-) dan *Streptococcus* (+). Saat ini uji biokimia kelompok bakteri ini dapat menggunakan Teknik Rapid dengan *Analytical Product Index* (API) Stap 20, atau menggunakan alat automatic seperti Vitex/Vitex compact-2 (Leboffe & Pierce, 2011).

4. Uji Katalase

Uji ini merupakan rangkaian dari uji biokimia untuk mendeteksi enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus* yaitu enzim katalase yang mampu menguraikan hydrogen peroksida 3 % menjadi molekul air dan oksigen. Oksigen yang terbentuk terperangkap menjadi sebuah gelembung.

Reaksi :



Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung

Staphylococcus : (+)

Streptococcus : (-)

5. Uji plasma koagulasi

Uji ini digunakan untuk mendeteksi bakteri *Staphylococcus* pathogen (*S. aureus*) dengan cara mereaksikan koloni bakteri dengan plasma citrate, maka bakteri *Staphylococcus aureus* yang memiliki enzim koagulasi mampu mengumpalkan *plasma citrate*. Hasil positif ditandai dengan adanya aglutinasi seperti pasir berwarna putih. Sedangkan yang negatif tampak suspensi berwarna putih.

Staphylococcus aureus (+) aglutinasi

Staphylococcus epidermidis (-) aglutinasi

6. Uji sensitivitas antibiotik, menggunakan media *Mueller Hinton* dengan antibiotik untuk *Stafilokokus* (Novobiocin), *Streptococcus* (Bacitrasin) dan *Pneumococcus* (Optochin) (Jawetz, 2020).

Daftar Pustaka

- Bulele, T., Rares, F. E. S., & Porotu'o, J. (2019). Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado. *Jurnal E-Biomedik*, 7(1), 30–36. <https://doi.org/10.35790/ebm.7.1.2019.22820>
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
- Gajdács, M., Ábrók, M., Lázár, A., & Burián, K. (2020). Increasing relevance of Gram-positive cocci in urinary tract infections: a 10-year analysis of their prevalence and resistance trends. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74834-y>
- J Vandepitte et al. (2003). *Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology*. WHO. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
- Jawetz, M. & A. (2020). Medical Microbiology. In *Suparyanto dan Rosad (2015 (26 th, Vol. 5, Issue 3)*. Mc. Graw Hill Lange.
- Leboffe & Pierce. (2011). A photographic atlas Microbiology laboratory. In *Morton (4 th)*. Morton Publishing.
- Ramachandran, G. (2014). Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis: A brief review. *Virulence*, 5(1), 213–218. <https://doi.org/10.4161/viru.27024>
- Savitri, N. H., Indiasuti, D. N., & Wahyunitasari, M. R. (2019). Inhibitory Activity of *Allium Sativum* L. Extract Against *Streptococcus Pyogenes* and *Pseudomonas Aeruginosa*. *Journal of Vocational Health Studies*, 3(2), 72. <https://doi.org/10.20473/jvhs.v3.i2.2019.72-77>

Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. (2018). *Microbiology*.
Pearson.

Tentang Penulis



Rochmanah Suhartati., lahir di Bandung, 24 September 1978. Jenjang Pendidikan S1 ditempuh di Universitas Siliwangi, Kota Tasikmalaya lulus tahun 2003. Pendidikan S2 Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto, lulus tahun 2014. Saat ini menjabat sebagai Kepala Lembaga Penjaminan Mutu Internal Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya. Sejak tahun 2005-2021 penulis bekerja sebagai dosen di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya mengampu mata kuliah Bakteriologi Klinik, penulis merupakan salah satu asesor kompetensi di Lembaga Sertifikasi Profesi P1 STIKes BTH Tasikmalaya, sebagai pengurus Asosiasi Perguruan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia (AIPTLMI), dan anggota Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI). Pertama menerbitkan buku yaitu buku ajar Pengetahuan Media dan Reagensia Teknologi Laboratorium Medik tahun 2020.

BAB 6

BAKTERI PATOGEN GRAM (+) BATANG

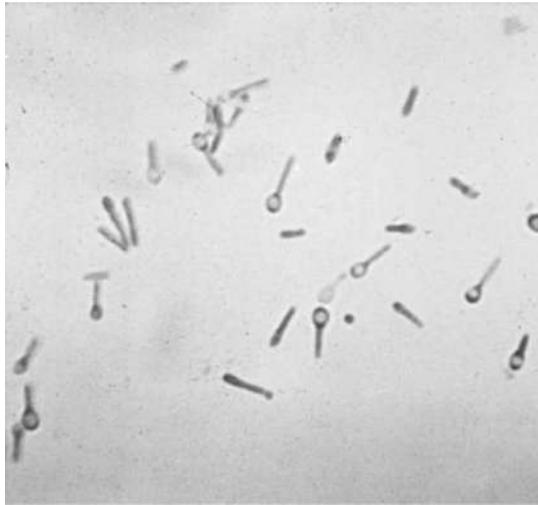
A. *Clostridium tetani*

1. Karakteristik

Clostridium tetani merupakan bakteri Gram-positif, berbentuk batang, motil, anaerobik, dan termasuk dalam organisme patogen. Bakteri ini memiliki panjang 2,5-4,0 μm dan lebar 0,4 μm , ditemukan dalam bentuk tunggal dan berpasangan (Hanif *et al.*, 2015). *Clostridium tetani* adalah bakteri pembentuk spora dari genus *Clostridium* (Rind *et al.*, 2019). Spora *Clostridium tetani* menyerupai raket tenis atau stik drum dengan tekstur yang sangat keras (Hanif *et al.*, 2015), oleh karena sifat ini, panas dan kebanyakan antiseptik tidak dapat mengganggu struktur kimia organisme ini (Rind *et al.*, 2019).

2. Klasifikasi Ilmiah

Kerajaan : Bakteri
Filum : Firmicutes
Kelas : Clostridium
Ordo : Clostridiales
Keluarga : Clostridiaceae
Genus : *Clostridium*
Spesies : *Clostridium tetani* (Gambar 1)
(Dramsi *et al.*, 2005)



Gambar 1. *Clostridium tetani* (Hodowanec and Bleck, 2014)

Clostridium tetani dikenal sebagai organisme penyebab penyakit yang dikenal sebagai tetanus, merupakan salah satu dari 4 patogen penghasil eksotoksin paling terkenal dalam kategori clostridia (Sharma and Shah, 2018). Tetanus merupakan kondisi yang

berpotensi fatal, saat ini upaya dalam mengurangi angka kejadian penyakit ini adalah vaksinasi, sehingga penting untuk mengenali gambaran klinis yang khas, penatalaksanaan segera, dan pengobatan infeksi *Clostridium tetani* (Avila *et al.*, 2018).

3. Patogenesis

Tetanus ditandai dengan kontraksi otot yang parah dan menyebar. Kekakuan dan kejang otot pada penyakit tetanus disebabkan oleh toksin tetanospasmin. Penularan bakteri ini dapat terjadi melalui jaringan luka yang terpapar oleh spora *Clostridium tetani* yang ada di tanah, kotoran hewan atau manusia (Hassel, 2013). Bakteri bereplikasi dan menyebar secara luas pada area luka, selanjutnya terjadi ekspresi gen yang mengkode 2 racun yaitu tetanospasmin dan tetanolysin. Toksin berikatan dengan reseptor pada membran presinaptik pada motor neuron, kemudian berpindah secara retrograde ke axonal transport sistem pada spinal cord dan batang otak (brain stem) (Stock, 2015). Toksin menyebar ke ujung sel inhibitor termasuk glycinergic interneurons dan aminobutyric acid-secreting neuron dari batang otak menyebabkan degradasi synaptobrevin sehingga terjadi hambatan pelepasan glycine dan gama-aminobutyric acid tetapi tidak terjadi hambatan motor neuron kondisi ini menyebabkan efek hiperaktif yang menyebabkan kontraksi otot rangka yang tidak disengaja (Tille, 2015).

4. Uji Biokimia

Uji biokimia pada strain *Clostridium tetani* menunjukkan hasil positif pada uji: H₂S dan DNase, hidrolisis gelatin. Reaksi negatif dihasilkan pada uji : gula-gula, nitrat, hidrolisis pati, aktivitas *lipase* dan *lecithinase* (Hanif *et al.*, 2015).

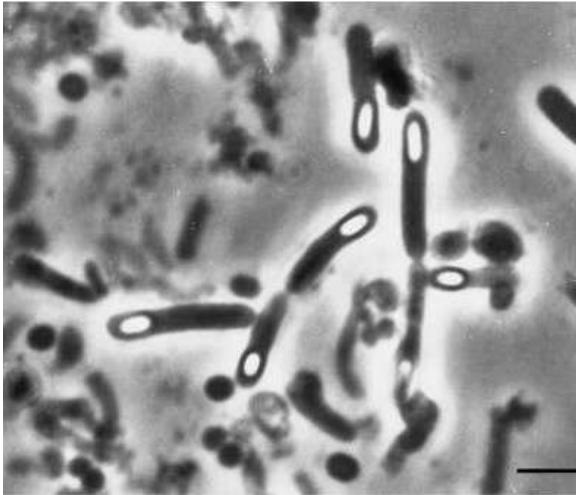
B. *Clostridium botulinum*

1. Karakteristik

Clostridium botulinum adalah sekelompok bakteri gram positif berbentuk batang atau seperti silinder, bersifat motil, membentuk endospora yang menyerupai raket tenis karena secara mikroskopis spora terlihat pada ujung sub-terminal, bakteri ini biasanya tersebar luas sebagai saprofit di tanah, kotoran hewan, sayuran, dan lumpur laut. Tumbuh paling baik dalam kondisi anaerob yang artinya hanya dapat tumbuh tanpa adanya oksigen (Otoikhian, 2013). Ukuran *Clostridium botulinum* sekitar $5 \mu\text{m} \times 1,0 \mu\text{m}$ (mikrometer), susunan sel bakteri ini tersusun sendiri-sendiri, berpasangan atau dalam rantai pendek, dan termasuk dalam organisme pleomorfik (Ekuma and Braide, 2022)

2. Klasifikasi Ilmiah

Kerajaan : Bakteri
Filum : Firmicutes
Kelas : Clostridia
Ordo : Clostridiales
Keluarga : Clostridiaceae
Genus : *Clostridium*
Spesies : *Clostridium botulinum* (Gambar 2)
(Smith *et al.*, 2015)



Gambar 2. *Clostridium botulinum* (Boerema and Broda,2004)

Clostridium botulinum membentuk spora tahan panas yang memungkinkan mereka bertahan hidup dalam keadaan tidak aktif sampai pada akhirnya menemukan kondisi yang dapat mendukung pertumbuhannya. Bakteri ini dalam kondisi rendah oksigen mampu menghasilkan *botulinum toxin*, yaitu racun saraf yang sangat mematikan dan menjadi penyebab penyakit botulisme. *Botulisme* merupakan penyakit neuroparalitik langka yang dapat mengancam jiwa (Milton *et al.*, 2020).

3. Patogenesis

Terdapat 3 jenis *botulisme*: *botulisme* makanan (*Foodborne botulism*), luka (*Wound botulism*), dan bayi (*Infant botulism*) (Pellett. 2015).

- a. ***Foodborne botulism*** terjadi ketika *Clostridium botulinum* tumbuh dan menghasilkan racun dalam makanan sebelum dikonsumsi. Sumber paling umum adalah makanan kaleng rumahan yang diproses dengan tidak benar (Pellett. 2015).

- b. **Botulisme luka (*Wound botulism*)** terjadi ketika spora *C. botulinum* masuk ke luka terbuka dan mampu bereproduksi dalam lingkungan anaerobic, kemudian melepaskan racun ke dalam aliran darah Anda. *Wound botulism* paling sering terjadi pada orang yang menggunakan jarum suntik untuk menyuntikkan obat ke pembuluh darahnya. Dalam kasus yang jarang terjadi, *Wound botulism* juga dapat berkembang setelah operasi atau cedera serius (Pellett. 2015).
- c. **Botulisme pada bayi (*Infant botulism*)** kebanyakan terjadi pada bayi di bawah usia 6 bulan. Berbeda dengan *foodborne botulisme* yang disebabkan oleh konsumsi racun yang telah terbentuk sebelumnya dalam makanan, hal ini terjadi saat bayi menelan spora *C. botulinum*, spora berkecambah menjadi bakteri berkoloni di usus, dan sel vegetatif mengeluarkan toksin botulinum. Pada kebanyakan orang dewasa dan anak-anak yang berusia lebih dari 6 bulan, hal ini tidak akan terjadi karena pertahanan alami di usus yang berkembang dari waktu ke waktu mencegah perkecambahan dan pertumbuhan bakteri. Meskipun ada beberapa kemungkinan sumber infeksi botulisme pada bayi, madu yang terkontaminasi spora *C. botulinum* sering dikaitkan dengan sejumlah kasus infeksi botulisme pada bayi. Oleh karena ahli menyarankan agar bayi tidak makan madu sampai mereka berusia setidaknya satu tahun (Pellett. 2015).

4. Uji Biokimia

Hasil uji biokimia bakteri *Clostridium botulinum* menunjukkan hasil positif pada uji: *Superoxide dismutase*, *Lipase*, *Arginin*, *Glisin*, *Fenilalanin*, *Proline*, *Serin*, *Tirosin*, *Triptofan*, Glukosa, H₂S, hidrolisis (*Gelatin*, *Kasein* & *Esculin*). Hasil negatif ditunjukkan pada beberapa

uji seperti: *Katalase*, *Indol*, *Oksidase*, *Fruktosa*, *Laktosa*, *Maltose* dan *Lecithinase* (Roxas-Duncan et al., 2009).

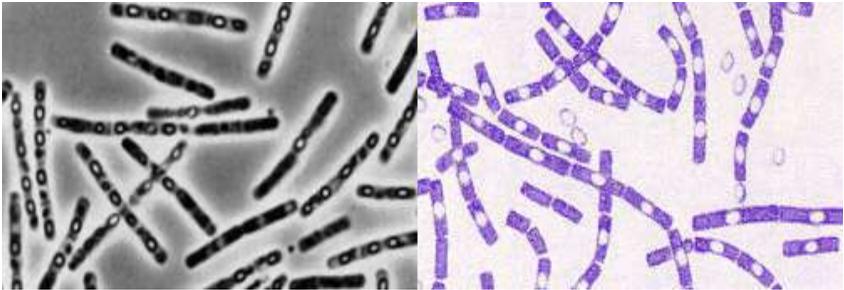
C. *Bacillus anthracis*

1. Karakteristik

Bacillus anthracis adalah satu-satunya patogen obligat dalam genus *Bacillus*, dilihat secara mikroskopis *Bacillus anthracis* berbentuk batang, ukuran memiliki lebar 1,0-1,2 μm dengan panjang 3,0-5,0 μm tersusun secara tunggal atau berpasangan, namun dalam sampel klinis sel dapat juga tersusun seperti rantai pendek berkapsul, termasuk kedalam kelompok gram positif dengan metabolisme aerobik atau anaerobik fakultatif, dan membentuk spora. Kemampuan dalam membentuk spora menyebabkan bakteri berumur panjang karena ketahanannya terhadap desinfektan fisik dan kimia. Spora bakteri ini rentan terhadap agen, seperti formaldehida, yang secara historis telah digunakan untuk dekontaminasi kulit binatang (Adegoke, 2004).

2. Klasifikasi Ilmiah

Kerajaan : Bakteri
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Keluarga : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Spesies : *Bacillus anthracis* (Gambar 3)
(Økstad and Kolstø, 2011)



Gambar 3. *Bacillus anthracis* (Leslie, 2004)

Bacillus anthracis adalah bakteri pembentuk spora aerobik yang menyebabkan penyakit pada manusia dan hewan. Bakteri ini ditemukan dalam dua kategori: antraks kulit dan antraks inhalasi. Anthrax kulit adalah infeksi kulit yang disebabkan oleh kontak langsung dengan bakteri. Inhalasi atau antraks pernapasan adalah penyakit menular yang disebabkan oleh menghirup spora bakteri. Antraks umumnya menyerang hewan berkuku seperti domba dan kambing, namun manusia juga dapat tertular penyakit ini. Anthrax dikenal sebagai agen potensial untuk digunakan sebagai senjata biologis atau bio-terorisme (Goel, 2015).

3. Patogenesis

Anthrax pada manusia biasanya diklasifikasikan berdasarkan portal masuk ke host seperti Anthrax kulit, Antraks inhalasi, dan Antraks gastrointestinal. Sebagian besar kasus Anthrax pada manusia adalah Anthrax kulit, yaitu infeksi lokal dengan gejala sistemik umumnya ringan dan ditandai dengan papul tanpa rasa sakit dikelilingi oleh edema yang bisa sangat luas. Papula mengalami ulserasi pada hari ke 5 atau 6 dan berkembang menjadi kerak hitam yang khas pada Antraks kulit. Tingkat pemulihan lebih dari 99%

untuk kasus antraks kulit yang diobati dengan antibiotik. Beberapa kasus, Antraks kulit yang tidak diobati, ditandai dengan penyebaran bakteri dari tempat awal infeksi dengan perkembangan septikemia dan toksemia massif. Antraks inhalasi adalah infeksi yang terjadi setelah menghirup spora di udara, sedangkan Antraks gastrointestinal terjadi akibat menelan makanan yang terkontaminasi strain *Bacillus anthracis*. Pada Antraks inhalasi, sel fagosit mengangkut spora dari alveoli paru ke kelenjar getah bening regional, tempat spora berkecambah dan bakteri berkembang biak. Basil kemudian menyebar ke aliran darah, di mana mereka untuk sementara dihilangkan oleh sistem retikuloendotelial. Sebelum kematian, yang terjadi 2 sampai 5 hari setelah infeksi, akan timbul gejala akut yang ditandai dengan hipotensi, edema, dan syok fatal akibat septikemia dan toksemia yang meluas, oleh karena itu intervensi terapeutik harus dimulai sejak dini, karena infeksi septikemia hampir selalu berakibat fatal (Chambers et al., 2018).

4. Uji Biokimia

Hasil uji biokimia pada strain *Bacillus anthracis* yaitu uji *katalase, hidrolisis gelatin, indole, vp, glukosa, maltose, ribose, sukrosa* dan reduksi nitrit menunjukkan hasil positif. Hasil negatif ditunjukkan pada beberapa uji seperti: *lisin, Ornithine Decarboxylase, Phenylalanine Deaminase, mannitol, laktosa, rhamnosa, inositol, oksidase* dan *urease* (Jula et al., 2011).

D. *Listeria monocytogenes*

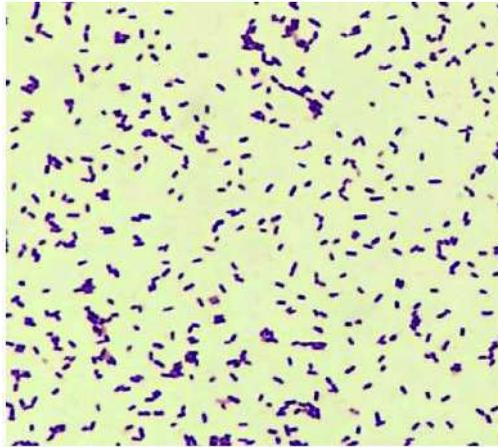
1. Karakteristik

Listeria monocytogenes merupakan kelompok bakteri Gram positif berbentuk basil, fakultatif anaerob, katalase positif, tidak mampu membentuk spora, tidak mampu mengoksidasi, serta memproduksi

β -hemolysis (Tjampakasari, 2021). Koloni *Listeria* setelah 24-48 jam memiliki diameter 0,5-1,5 mm, berbentuk bulat, *translucent*, konveks dengan permukaan halus, tidak berpigmen dengan crystalline di bagian tengah. Koloni akan sedikit lengket apabila diangkat dari permukaan agar medium pertumbuhan, namun akan mudah teremulsifikasi setelah pengangkatan (Liu, 2008).

2. Klasifikasi Ilmiah

Kerajaan : Bakteri
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Keluarga : Listeriaceae
Genus : *Listeria*
Spesies : *Listeria monocytogenes* (Gambar 4)
(Gray and Killinger, 1966).



Gambar 4. *Listeria monocytogenes* (Wahab *et al.*, 2018)

Listeria monocytogenes tersebar secara luas di tanah, tumbuhan, air permukaan, saluran pembuangan, ditemukan juga pada susu sapi, serta feses hewan dan manusia. Bakteri ini dapat menginfeksi manusia melalui bahan pangan sehingga menimbulkan penyakit yaitu listeriosis (Prahesti et al., 2017).

3. Patogenesis

Listeria mampu menginfeksi berbagai tipe sel pejamu. Rute infeksi diawali setelah pejamu mengonsumsi bahan makanan tercemar, bakteri masuk kemudian menuju saluran pencernaan (Liu, 2006). Selanjutnya bakteri akan masuk aliran darah dan menyebar di jaringan hati, limpa, hingga jaringan plasenta pada ibu hamil. Distribusi dan perpindahan bakteri ini difasilitasi oleh makrofag (Liu, 2008) (Tjampakasari, 2021).

4. Uji Biokimia

Hasil uji biokimia bakteri *Listeria monocytogenes* menunjukkan beberapa hasil positif pada uji: *CAMP*, *katalase*, *MR-VP*, *D-Glucose*, *laktosa*, *gliserol*, *Rhamnose*, *sukrosa*, *Acid Phosphatase*, dan *Arginine Dehydrolase*. Hasil negatif ditunjukkan pada uji: *Tryptophanase*, *Cellulose*, *Xylose*, *Ribose*, *Arabinose*, *Urease*, *oksidase*, *Indole*, H_2S , dan reduksi nitrit (Gasarov et al., 2005)

Daftar Pustaka

- Adegoke, G. O. (2004). Understanding food microbiology. Nigeria: Alleluila ventures ltd.
- Avila, L., Cascone, O., Biscoglio, M., & Fingerhann, M. (2018). An effective, simple and low-cost pretreatment for culture clarification in tetanus toxoid production. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 48(9), 808-814.
- Boerema, J. A., & Broda, D. M. (2004). Microbiological safety of meat | *Clostridium botulinum*.
- Chambers, J., Yarrarapu, S. N. S., & Mathai, J. K. (2018). Anthrax infection. *StatPearls*.
- Dramsi, S., Trieu-Cuot, P., & Bierne, H. (2005). Sorting sortases: a nomenclature proposal for the various sortases of Gram-positive bacteria. *Research in microbiology*, 156(3), 289-297.
- Ekuma, W. D. U., & Braide, W. (2022). FST 302 Food Microbiology. Nigeria: National Open University of Nigeria.
- Gasanov, U., Hughes, D., & Hansbro, P. M. (2005). Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review. *FEMS microbiology reviews*, 29(5), 851-875.
- Goel, A. K. (2015). Anthrax: A disease of biowarfare and public health importance. *World Journal of Clinical Cases: WJCC*, 3(1), 20.
- Gray, M. L., & Killinger, A. H. (1966). *Listeria monocytogenes* and listeric infections. *Bacteriological reviews*, 30(2), 309-382.
- Hanif, H., Anjum, A., Ali, N., Jamal, A., Imran, M., Ahmad, B., & Ali, M. I. (2015). Isolation and antibiogram of *Clostridium*

- tetani from clinically diagnosed tetanus patients. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(4), 752.
- Hassel, B. (2013). Tetanus: pathophysiology, treatment, and the possibility of using botulinum toxin against tetanus-induced rigidity and spasms. *Toxins*, 5(1), 73-83.
- Hodowanec, A., & Bleck, T. P. (2014). Tetanus (*Clostridium tetani*). In Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (pp. 2757-2762). Elsevier Inc.
- Jula, G. M., Sattari, M., Banihashemi, R., Razzaz, H., Sanchouli, A., & Tadayon, K. (2011). The phenotypic and genotypic characterization of *Bacillus anthracis* isolates from Iran. *Tropical animal health and production*, 43(3), 699-704.
- Leslie, M. (2004). The good, the bad, and the deadly. *Science*, 304(5676), 1421-1422. M. (2004). The good, the bad, and the deadly. *Science*, 304(5676), 1421-1422.
- Liu D. Handbook of *Listeria monocytogenes*. 1st ed. USA: Taylor & Francis CRC Press; 2008. p.33-63.
- Milton, A. A. P., Priya, G. B., Momin, K. M., Angappan, M., Ghatak, S., & Kannan, P. (2020). Foodborne Pathogenic Anaerobes. In *Food Product Optimization for Quality and Safety Control* (pp. 31-52). Apple Academic Press.
- Økstad, O. A., & Kolstø, A. B. (2011). Genomics of *Bacillus* species. In *Genomics of foodborne bacterial pathogens* (pp. 29-53). Springer, New York, NY.
- Otoikhian, C. S. O. (2013). Microbial Evaluation Of *Clostridium Botulinum* In Different Meat Types Sold In Amai-Ogume Market. *Int. J. Engg. Res. & Sci. & Tech.*

- Pellett, S. (2015). Pathogenesis of *Clostridium botulinum* in Humans. *Human Emerging and Re-emerging Infections: Viral and Parasitic Infections*, 821-839.
- Prahesti, K. I., Mayasari, N. L. P. I., Malaka, R., Yuliati, F. N., & Pasaribu, F. H. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Listeria monocytogenes* dari Susu Sapi Segar di Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 5(2), 57-65.
- Rind, Nasir & Taj, Muhammad & Jan, Saadullah & Ali, Syeda & Mohammad, Ghulam & Hussain, Ashiq & Ali, Mohammad & Rafiq, Majid & Zafar, Umbreen & Essote, Saeed & Samreen, Zohra. (2019). *Clostridium tetani* as a pathogenic organism. *International Journal of Biosciences (IJB)*. 14. 207-213, 2019. 10.12692/ijb/14.4.207-213.
- Roxas-Duncan, V., Enyedy, I., Montgomery, V. A., Eccard, V. S., Carrington, M. A., Lai, H., ... & Smith, L. A. (2009). Identification and biochemical characterization of small-molecule inhibitors of *Clostridium botulinum* neurotoxin serotype A. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(8), 3478-3486.
- Sharma, D. S., & Shah, M. B. (2018). A rare case of localized tetanus. *Indian Journal of Critical Care Medicine: Peer-reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine*, 22(9), 678.
- Smith, T. J., Hill, K. K., & Raphael, B. H. (2015). Historical and current perspectives on *Clostridium botulinum* diversity. *Research in Microbiology*, 166(4), 290-302.
- Stock, I. (2015). Tetanus and *Clostridium tetani*--a brief review. *Medizinische Monatsschrift für Pharmazeuten*, 38(2), 57-60.

- Tille, P. (2015). *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Tjampakasari, C. R. (2021). Bakteri Gram positif *Listeria monocytogenes* sebagai penyebab Food-borne Disease. *Cermin Dunia Kedokteran*, 48(1), 20-24.
- Wahab, A., Siddique Chaudhary, A. A., Kollu, V., & Smith, S. (2018). A life-devastating cause of gastroenteritis in an immunocompetent host: was it suspected?. *Clinical Case Reports*, 6(1), 209.

Tentang Penulis



Ratih Kartika Dewi. Lahir di Mataram, Lombok, Nusa Tenggara Barat. Latar belakang Pendidikan menempuh D3 Analis Kesehatan di Poltekkes Kemenkes Mataram. Pendidikan S1 Biologi dengan konsentrasi Biomedik, di Universitas Nasional Jakarta dan S2 Ilmu Biomedik di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Saat ini menjabat sebagai Dosen di Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka.

Email: ratihkartika1461@gmail.com

Nomor HP/WA: 082260600842

BAB 7

BAKTERI PATOGEN GRAM (-) KOKUS

A. *Neisseria Sp.*

Sebagian besar anggota genus ini hidup komensal ekstraseluler di saluran napas bagian atas. Dua spesies yang bersifat bersifat patogenik dan hidup intraseluler adalah *Neisseria meningitides* (meningococcus) dan *Neisseria gonorrhoeae* (gonococcus). Isolasi *Neisseria* biasanya dilakukan dengan medium agar *Thayer-Martin* (yang mengandung antibiotika vancomycin, colistin, nystatin dan TMP-SMX untuk menghambat kontaminasi bakteri dan jamur) dan nutrisi untuk pertumbuhan *Neisseria*.

Gonococci hanya tumbuh baik pada medium pertumbuhan yang lengkap dan tidak dapat tumbuh pada medium agar darah biasa. Medium yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri ini antara lain adalah Agar *Modified Thayer-Martin* (MTM) atau Agar *Martin-Lewis* (ML).

Biakan medium *Neisseria* selalu diinkubasi dalam lingkungan CO₂ untuk meningkatkan pertumbuhan. Koloni *N. gonorrhoeae* mempunyai garis tengah berukuran 1-4 mm sesudah diinkubasi 48 jam untuk menumbuhkan tipe-tipe koloni T1, T2, T3 dan T4. Koloni *Neisseriae* halus dan tidak berpigmen. Beberapa strain bakteri menghasilkan koloni kecil yang tidak khas.

Kapsul polisakarida. Kapsul ini membungkus disekeliling membran terluar bakteri dan melindunginya dari mekanisme imun efektor yang terlarut di dalam serum. Kapsul yang berperan sebagai faktor virulensi ini tidak terdapat pada *N. gonorrhoea*.

Mikroskopi. *Neisseria gonorrhoeae* yang disebut juga gonococcus adalah bakteri diplokokus yang Gram-negatif, yang menjadi penyebab gonore, infeksi yang ditularkan melalui hubungan seksual.

Garis tengah bakteri ini sekitar 1 µm, agak memanjang dan tersusun berpasangan, motil, tidak berkapsul dan tidak membentuk spora. Meskipun demikian, jika strain dari spesies patogen baru diisolasi, dapat terlihat adanya kapsul. Organisme ini dapat ditemukan intraseluler maupun ekstraseluler pada leukosit PMN (*polymorphonuclear*). Jika dilakukan subkultur di laboratorium, bakteri tampak lebih sferis dan cenderung berkelompok. Beberapa strain gonococcus membentuk fimbriae yang halus.

N. gonorrhoeae memiliki pili tipe IV untuk melekat kuat pada permukaan. Bakteri ini mempunyai protein permukaan tempat melekat pada reseptor sel imun, tetapi dapat mencegah terjadinya respon imun, dan tidak terbentuknya memori imun sehingga reinfeksi dengan diplokokus ini dapat terjadi. *N. gonorrhoeae* dapat menghindari sistem imun dengan membentuk variasi antigenik, sehingga sel imun sukar mendeteksi diplokokus ini.

B. *Neisseria meningitidis*

Neisseria meningitidis, sering disebut sebagai *meningococcus* adalah bakteri penyebab meningitis, dan penyakit meningokoka lainnya misalnya sepsis meningokokus (*meningococcaemia*). Bakteri ini merupakan penyebab penting tingginya morbidita dan mortalitas meningitis pada anak-anak di negara-negar industri dan dapat menimbulkan epidemi di Afrika dan Asia. *Neisseria meningitidis* adalah diplococcus yang pada pewarnaan termasuk Gram-negatif, dan biakan bakteri menunjukkan tepositif terhadap enzim *cytochrome c oxidase*.

N. meningitidis hidup di saluran napas atas dan nasofaring sering merupakan bagian flora normal mukosa pada 5-15% orang dewasa. Selain itu organisme ini dapat ditemukan pada mukosa rongga mulut, rektum, saluran urogenital dan plak gigi. Meningococci hanya menginfeksi manusia untuk mendapatkan zat besi (transferrin dan lactoferrin).

Meningococci diklasifikasi berdasar struktur antigenik kapsul polisakarida. Terdapat enam kelompok *N. meningitidis* yang dapat menimbulkan epidemi, yaitu grup A,B,C, W135, X dan Y. *Meningococcus* ditularkan melalui ludah dan sekresi respire lainnya, melalui batuk, bersin, berciuman, dan menjilat mainan.

Infeksi bakteri ini menyebabkan kelelahan umum, demam, sakit kepala dan kaku kuduk yang dapat cepat berubah meny koma dan kematian. Gejala meningitis yang ditimbulkan sukar dibedakan dari meningitis oleh *Hemophilus influenzae* dan *Streptococcus pneumoniae*. Sekitar 10% penderita terinfeksi dunia, dan angka kematian dapat menungkat pada penderita dengan gangguan gangguan imunitas, misalnya karena sindrom nefrotik atau splenektomi.

Virulensi meningococcus lipooligosakarida komponen membran terluar *N. meningitidis* yang bertindak sebagai endotoksin yang menjadi penyebab terjadinya syok septik dan perdarahan akibat kerusakan sel darah merah. Faktor virulensi lain adalah kapsul polisakarida yang menghambat fagositosis respon imun dan fimbriae yang menyebabkan pelekatan bakteri pada sel epitel nasofaring.

Biakan bakteri. Spesies patogenik untuk pembiakannya memerlukan lingkungan dengan atmosfer mengandung 10% CO₂. Untuk isolasi primer dibutuhkan medium kultur agar darah atau agar darah yang sudah dipanaskan, dengan inkubasi 37C selama 48 jam sebelum kultur dinyatakan negatif. Untuk medium selektif digunakan medium MNYC (*modified New York City medium*) yang merupakan medium kaya yang mengandung antibiotika untuk menghambat pertumbuhan organisme kontaminan.

Bentuk Koloni. Koloni berbentuk konvex, berukuran garis tengah 1-2 mm, ransparan, tidak berpigmen dan non-hemolitik. Organisme ini tumbuh dengan baik pada lempeng agar darah (*blood agar plate -BAP*) dan lempeng agar coklat (*chocolate plate-CAP*) pada suhu 35-37 üC dengan lingkungan 5% CO₂. Koloni *N. meningitidis* berwarna kelabu dan pada BAP tidak membentuk pigmen, berbentuk bulat, halus, lembab, mengkilat dan Konveks, dengan tepi yang jelas batasnya. Pada CAP koloni *N. meningitidis* berukuran besar, tak berwarna atau kelabu. Untuk melakukan identifikasi dan karakterisasi bakteri, jika dilakukan dengan BAP inkubasi lama 18-24 jam, atau jika pada CAP pada suhu 35-37°C dengan 5% CO₂ (pada *candle-jar*).

Reaksi biokimiawi. Semua spesies *Neisseria* memberikan reaksi *oksidase positif*. Pemeriksaan ini dilakukan dengan

menggunakan 1% larutan oksidase yang baru dibuat pada lempeng kultur. *Neisseriae* segera berubah warna menjadi ungu tua. Metoda lain adalah dengan mencelupkan kertas saring pada sediaan reagen oksidase lalu mengoleskan pada kertas saring tersebut satu tetes kultur dari koloni. Jika hasil positif, sisa kultur dapat di sub kultur untuk penelitian selanjutnya.

Diferensiasi *Neisseria*. Untuk melakukan diferensiasi spesies *Neisseria* dilakukan pemeriksaan reaksi fermentasi. Suatu suspensi padat dari kultur bakteri yang diinkubasi satu malam dibuat pada garam penyangga (buffer) dan aliquot suspensi kemudian ditambahkan pada 10 % *stock solution* dari gula uji. Tabung yang sudah diinokulasi diinkubasi pada 37°C pada penangas air (*water bath*) dan reaksi dibaca sesudah 3 jam.

Penggunaan karbohidrat oleh *N. meningitidis* (Tabel 1). Uji karbohidrat dilakukan untuk memastikan identifikasi strain misalnya *N. meningitidis*. Pada uji ini digunakan 4 jenis karbohidrat, yaitu glucose (dextrosa), maltosa, laktosa dan sukrosa yang ditambahkan pada CTA (*cystine trypticase agar*), dengan menggunakan indikator merah fenol pada medium)

Tabel 1. Penggunaan karbohidrat (pembentukan asam) oleh *Neisseriae* dan *Moraxella* spp. (Carroll *et al.*, 2019)

	Pertumbuhan Pada Media Thayer Martin/ Media NYC	Fermentasi Karbohidrat				DNase
		Glukosa	Maltosa	Laktosa	Sukrosa/ Fruktosa	
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	+	-	-	-	-
<i>N. meningitidis</i>	+	+	+	-	-	-
<i>N. lactamica</i>	+	+	+	+	-	-
<i>N. sicca</i>	-	+	+	-	+	-
<i>N. subflava</i>	-	+	+	-	+/-	-
<i>N. mucosa</i>	-	+	+	-	+	-
<i>N. flavescens</i>	-	-	-	-	-	-
<i>N. cinerea</i>	+/-	-	+	-	-	-
<i>N. polysaccharea</i>	+/-	+	+	-	-	-
<i>N. elongata</i>	-	-	-	-	-	-
<i>M. catarrhalis</i>	-	-	-	-	-	+

Reaksi fermentasi *Neisseriae*. Semua spesies *Neisseria* yang menyebabkan penyakit pada manusia bereaksi katalase positif dan oksidase positif, Identifikasi spesies *Neisseria* dilakukan dengan Uji reaksi gula yang menghasilkan asam. Sebagai contoh, *N. gonorrhoeae*

pada reaksi gula yang menghasilkan asam hanyalah glukose, sedangkan *N. meningitidis* oleh reaksi glukose dan maltose.

Reaksi gula pada CTA (*cystine trypticase* agar) untuk *N meningitidis* menggunakan glukosa atau dekstroza dan maltose menunjukkan pembentukan asam (warna berubah menjadi kuning) dan tidak ada pemakaian laktosa dan Sukrosa.

Terjadi dan terlihatnya kekeruhan serta warna kuning pada bagian atas medium menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri dan pembentukan asam berarti hasil uji positif. Hasil negatif sesudah diinkubasi 72 jam. Perubahan warna menjadi kuning tidak terjadi kekeruhan biasanya bukan reaksi positif

Karakter serologi. Untuk menentukan grup serologi *N meningitidis* dilakukan reaksi aglutinasi menggunakan antisera yang dibuat terhadap antigen sel permukaan. Terdapat tiga group antisera yang penting yaitu group A B dan C. Grup A adalah strain yang sering menyebabkan meningitis meningococcus karena mempunyai patogenitas yang lebih tinggi dibanding serogrop yang lainnya. Grup lainnya umum ditemukan pada nasofaring orang sehat. *N. gonorrhoe* secara serologis heterogen meskipun pada isolasi menunjuk hanya ada satu serogrup

Kelompok komensal *Neisseria*. Kelompok komensal pada manusia ini semuanya bersifat oksidase positif dan morfologinya identik dengan meningococi dan gonococci. Semuanya tumbuh baik pada *nutrient agar* dan menghasilkan koloni dalam waktu 18 jam pada suhu 37°C, untuk membedakannya dari spesies patogen lainnya. Koloninya lebih tebal dan lebih *opaque* dibanding gonococci dan meningococci. Beberapa anggota *Neisseriae* yang komensal membentuk koloni yang berpigmen.

a. Infeksi *Neisseria*

Hanya ada dua anggota genus yang patogenik untuk manusia yaitu *N.meningitidis* dan *N. gonorrhoeae* yang keduanya merupakan parasit obligat yang sukar bertahan hidup di luar hospesnya. Pada infeksi lokal diagnosis ditetapkan dengan pewarnaan Gram dan kultur dari bahan infeksiif.

N.meningitidis dapat menyebabkan:

- Meningitis piogenik akut
- Konjungtivitis
- Endokarditis
- Septikemia

b. Meningitis

Meningitis adalah keadaan kedaruratan medik yang memerlukan penanganan segera. Jika meningitis meningokokus atau *septicemia* terjadi penderita harus diobati dengan memberikan antibiotika intravenous dan penderita harus dirawat dirumah sakit. Dengan demikian pemeriksaan laboratorium tidak diperlukan untuk memastikan adanya *Neisseria meningitides* karena pemberian antibiotika telah menurunkan jumlah bakteri di dalam tubuh.

Septikemi oleh *N. meningitidis* belum menunjukkan gejala klinis meningitis melainkan selalu menyebabkan terjadinya ruam purpura, sehingga diagnosis septikemi jarang ditegakkan. Septikemi yang terjadi dalam waktu beberapa jam sesudah diagnosis dipastikan, dapat menyebabkan angka kematian penderita mencapai 50%.

Meningitis meningokokus. Meningitis oleh *Neisseria meningitidis* menunjukkan gejala dan keluhan sebagai berikut:

- Sakit kepala yang berat
- Demam
- Mual dan muntah
- Fotofobi
- Kaku kuduk

Letargi atau selalu mengantuk sering dilaporkan, sedangkan stupor dan koma jarang terjadi. Terjadinya koma menunjukkan buruknya prognosis. Penderita juga mengeluh terjadinya ruam kulit yang menunjukkan bahwa penyakit berlangsung progresif. Pada orang lanjut usia sering menunjukkan perubahan menunjukkan perubahan mental dan terjadinya demam yang lama. Jika terjadi septikemi meningokokus yang berat, penderita dapat mengalami kolaps sirkulasi dan ruam pendarahan. Pada penderita anak, meningitidis meningokokus menunjukkan gambaran klinis sebagai berikut:

- Infeksi subakut berlangsung progresif selama beberapa hari
- Mudah marah (*irritability*)
- Muntah
- Kejang kejang yang terjadi pada hari pertama
- Sindrom *watrerhousese-Friderichesen* berupa perdarahan petekia yang luas pada kulit dan membrane mukosa demam, Syok septik dan DIC (*disseminated intravascular coagulation*)
- Pada bayi terjadinya gejala bisa tidak jelas, misalnya tanpa kaku kuduk

c. Diagnosis Infeksi *N. meningitidis*

Standard emas untuk diagnosis adalah isolasi *Neisseria meningitidis* dari cairan tubuh yang biasa steril. Suatu sampel klinis misalnya berupa cairan serebro spinal dikirimkan segera ke laboratorium untuk identifikasi organisme. Diagnosis ditetapkan dengan membiakkan organisme pada *chocolate agar plate* yang kemudian diikuti dengan uji katalase dan uji oksidase (yang positif; pada semua *Neisseria*) dan uji karbohidrat maltose, sukrose dan glukosa.

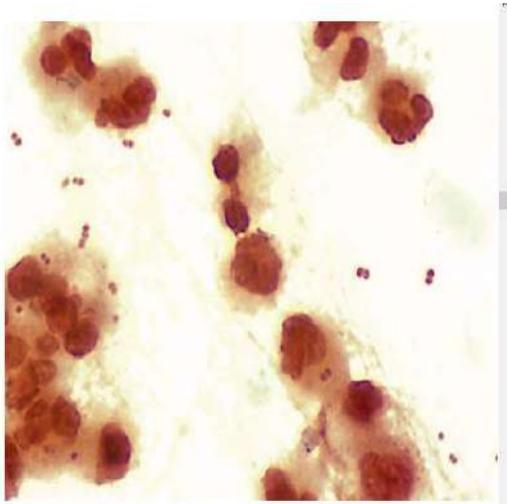
Pemeriksaan laboratorium atas Cairan serebrospinal memastikan terjadinya meningitis, jika terdapat gambaran sebagai berikut:

- Tekanan terbuka lebih dari 180 mm air
- Pleositosis leukosit polimorfonuklir, dengan hitung sel leukosit antara 10 dan 10.000 sel/ul, sebagian besar neutrophil
- Kadar glukosa menurun, kurang dari 45 mg/dL Dalam uji karbohidrat ini *N.meningitidis* memfermentasi glukosa dan maltosa.
- Kadar protein meningkat, lebih dari 45 mg/dL
- Untuk menentukan subgrup organisme dilakukan pemeriksaan serologi.

Pemeriksaan laboratorium lain yang dapat dilakukan, yaitu:

- Kultur cairan serebrospinal dan darah untuk menemukan *N. meningitidis* (Gambar 1).
- PCR (*polymerase chain reaction*) untuk memastikan diagnosis.
- *Computed tomography* (CT) *scanning* dengan indikasi penderita tidak sadar, adanya papil edema, kelainan neurologi, atau adanya kejang.

- MRI (*magnetic resonance imaging*). Penggunaan kontras menunjukkan lebih jelas adanya lesi otak, edema serebral, dan iskemia serebral.



Gambar 1. *Neisseria meningitidis* dalam cairan serebrospinal (Murray et al., 2015).

Uji klinis untuk mendiagnosis penyakit meningokokus dilakukan antara 2-48 jam sesudah infeksi dengan membiakkan bakteri dari darah atau cairan serebro spinal. pemeriksaan PCR (*Polymerase chain reaction*) dapat dilakuka untuk menentukan identitas organisme meskipun antibiotik sudah diberikan untuk mengatasi infeksi. Karena angka kematian dapat mencapai 15% dalam waktu 12 jam infeksi, pemeriksaan klinis laboratorium harus segera diberikan tanpa menunggu hasil terapi antibiotika.

C. *Neisserida gonorrhoeae*

Neisseria gonorrhoeae, yang Juga dikenal sebagai gonococcus, adalah diplococcus gram-negatif penyebab penyakit gonore. Gonococcus dapat menyebabkan infeksi lokal, biasanya di traktus genitalis, tetapi infeksi dapat juga menyebar ke berbagai organ. *N. gonorrhoeae* dapat hidup bebas di luar hospes, dan dapat menyebabkan berbagai infeksi dan bakteremia yaitu *gonore*, *urethritis*, *prostatitis* dan *epididimitis*, *orchitis*, *cervicitis*, *endometritis*, *meningitis*, *faringitis*, *arthritis*, *endokarditis* (jarang terjadi), konjungtivitis dan vulvovaginitis.

Gejala infeksi *N. gonorrhoeae* berbeda-beda tergantung pada tempat terjadinya infeksi. Sekitar 10% dari laki-laki yang terinfeksi dan 80% perempuan yang terinfeksi tidak menunjukkan gejala atau keluhan (asintomatis). Infeksi pada genital dapat menyebabkan terbentuknya cairan purulen mirip nanah yang berbau busuk dan menunjukkan terjadinya peradangan, kemerahan, pembengkakan dan disuria. Pada bayi sering terjadi konjungtivitis (*ophthalmic neonatorum*) (Gambar 2) yang didapat karena bayi terpapar *N. gonorrhoeae* yang terdapat di jalan lahir. Infeksi ini dapat menyebabkan kerusakan kornea atau perforasi sehingga bayi menjadi buta.

Infeksi kuman ini juga dapat menimbulkan sindrom dermatitis-arthritis gonokok (Gambar 3) dengan gejala *artralgia*, *tenosynovitis* dan *dermatitis* yang tidak gatal dan tidak nyeri. Penyakit radang *pelvis gonore* jika tidak diobati dapat menyebabkan infertilitas karena terjadinya jaringan parut pada tuba fallopii Strain *N. gonorrhoeae* dapat membentuk beta-laktamase dan dilaporkan terjadinya pandemi infeksi gonococci di Timur jauh yang menjangar ke berbagai negeri, antara lain Inggris.

a. Gonore

Gonore adalah infeksi *N.gonorrhoeae* yang ditularkan melalui kontak seksual atau terjadi perinatal dan terutama menginfeksi membran mukosa dari uretra dan cervix. Jarang terjadi infeksi pada rektum, orofaring, dan konjungtiva.

Infeksi genital pada perempuan yang menjalar ke atas dapat menyebabkan endometritis dan salpingitis (yang secara bersama disebut PID-*pelvic inflammatory disease*), yang merupakan komplikasi utama penyebab infertilitas pada perempuan.



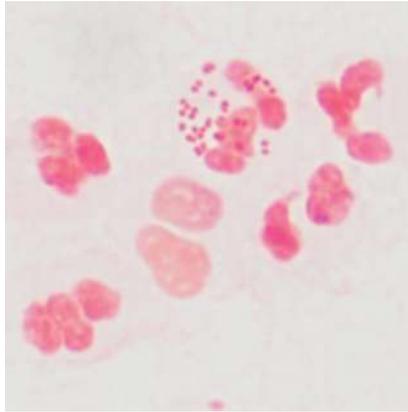
Gambar 2. Oftalmia neonatorum gonokokal. Edema kelopak mata, eritema, dan debit purulen ditandai terlihat. Apusan Gramstained akan mengungkapkan banyak organisme dan sel inflamasi (Murray et al., 2015)



Gambar 3. Lesi kulit dari infeksi gonokokus yang disebarluaskan. Lesi besar klasik dengan nekrotik, lesi sentral keabu-abuan pada eritematosa. (Murray et al., 2015)

b. Isolasi Gonokokus

Karena gonokokus yang bercampur dengan flora normal sangat mudah mati, isolasi dilakukan melalui pengambilan bahan kultur yang benar dan tidak terpapar lingkungan, serta membutuhkan medium kultur yang sesuai (misalnya *Martin-Lewis* agar) dan dilakukan identifikasi yang tepat (Gambar 4).



Gambar 4. Pewarnaan Diplokokus Gram-negatif intraseluler (*N. gonorrhoeae*) (Carroll et al., 2019)

Koleksi bahan pemeriksaan. Pada orang laki-laki untuk membiakkan gonokokus, bahan pemeriksaan yang terbaik adalah eksudat uretra atau kerokan uretra. Kultur dari bahan dari tenggorok atau rektum hanya dilakukan jika ada indikasi seksual di daerah tersebut.

Pada perempuan usap cervix lebih baik dari pada bahan Periksaan berasal dari uretra atau vagina. Yang terbaik adalah bahan meriksaan dari cervix bersama bahan pemeriksaan rektal. Bahan pemeriksaan harus segera dibawa ke laboratorium kurang dari 4 jam) dengan menggunakan medium transport.

c. Resistensi *Gonococcus* terhadap Antibiotika

Antibiotika pada umumnya dapat digunakan untuk mengobati infeksi dengan *Neisseria* patogen. Dilaporkan telah terjadi peningkatan prevalensi strain-strain bakteri gonokok dan meningokok terhadap antibiotika (misalnya keluarga penicillin)

sehingga harus diganti dengan *ceftriaxone* (generasi ketiga *cephalosporin*). Akan tetapi kemudian juga terjadi resistensi gonokok terhadap *ceftriaxone*, sehingga hal ini menyulitkan pengobatan terhadap gonore. Karena itu gonokok dimasukkan dalam kelompok "*superbug*".

Daftar Pustaka

- Carroll, K. C., Butel, J., & Morse, S. (2019). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology 27 E.*
- Ekawati, R. E. (2018). *Bakteriologi : Mikroorganisme Penyebab Infeksi.* Deepublish.
- Ferri, F. (2019). *Ferri's Best Test : A Practical Guide To Clinical Laboratory Medicine And Diagnostic Imaging Fourth Edition.*
- Kumar, S. (2016). *Essentials of Microbiology First edition.* Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2015). Staphylococcus and related Gram-positive cocci. In *Medical Microbiology.*
- Pitt, S. J. (2018). *Clinical Microbiology for Diagnostic Laboratory Scientists.* Wiley Blackwell.
- Ryan, K. J., & Ray, C. G. (2018). *Sherris Medical Microbiology (Seventh Ed).*
- Sastry, A., & Bhat, S. (2020). *Essentials of Medical Microbiology (Vol. 21, Issue 1).* Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Soedarto. (2015). *Mikrobiologi Kedokteran.* Sagung Seto.

Tentang Penulis



Zuraida. Lahir di Jakarta. Jenjang Pendidikan Diploma III Analisis Kesehatan di tempuh pada AAK Yayasan Pendidikan MH Thamrin Jakarta, Pendidikan S1 Kesehatan Masyarakat pada Universitas Indonesia. Jakarta. Pendidikan S2 Kesehatan Masyarakat di Universitas Indonesia.

Jakarta

Email: nurhasan.aida@gmail.com. WA: 081295820542

BAB 8

BAKTERI PATOGEN GRAM (-) BATANG

A. Infeksi Pada Saluran Pencernaan

1. *Salmonella sp.*

Bakteri *Salmonella sp.* merupakan salah satu bakteri penyebab utama *food borne disease* di Amerika Serikat. Karena bakteri ini sering ditemukan dalam bahan makanan atau minuman dan merupakan salah satu bakteri patogen yang sering menginfeksi manusia melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi.

Masuknya bakteri *Salmonella sp.* ke dalam tubuh manusia dapat berpengaruh terhadap kesehatan, diantaranya dapat menyebabkan penyakit gastroenteritis, demam tifoid dan bakteremia dengan atau tanpa penyakit. Gastroenteritis yang disebabkan oleh *salmonella* merupakan infeksi pada usus dan terjadi lebih dari 8

sampai 48 jam setelah bakteri patogen itu masuk ke dalam host. Ciri-cirinya adalah diare, demam, sakit kepala, muntah, sakit pada abdomen (abdominal pain) yang terjadi selama 2 sampai 5 hari. Gejalanya antara lain kehilangan cairan dan kehilangan keseimbangan elektrolit merupakan bahaya terutama terhadap anak-anak dan orang tua.

2. *Shigella*

Shigella merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, tunggal, tidak memiliki flagel, aerobik ataupun aerobik fakultatif dan tidak membentuk spora. Suhu optimum pertumbuhan yakni 37°C dimana habitatnya berada pada saluran pencernaan dengan infeksiusnya melalui fase oral.

Bakteri ini mampu mengeluarkan LT toksik yang akan menginvasi ke epitel sel mukosa usus halus dan berkembang dengan baik pada daerah invasi tersebut. *Shigella* akan mengeluarkan toksik yang akan merangsang terjadinya perubahan sistematik pada mukosa usus yang dapat menyebabkan sel-sel akan mati pada jaringan epitel usus halus sehingga terjadi tukak kecil di daerah invasi. Menurut Prihastika (2005) diare yang dikeluarkan dapat bercampur dengan lendir dan darah sehingga isolasi bakteri ini dapat dilakukan melalui feses penderita.

3. *Vibrio cholera*

V. cholerae termasuk bakteri gram negatif, berbentuk batang bengkok seperti koma dengan ukuran panjang 2-4 µm. Koch menamakannya "*kommabacillus*". Morfologi sel *V. cholerae* bisa menjadi batang yang lurus mirip dengan bakteri enteric gram negatif bila inkubasi diperpanjang. Bakteri *V. cholerae* memiliki satu buah flagela halus pada ujungnya (*Monotrikh*) yang menyebabkan bakteri ini bergerak sangat aktif. Bakteri ini tidak

membentuk spora, bentuk koloninya cembung (*convex*), dan bergranula bila disinari.

V. cholerae bersifat aerob atau anaerob fakultatif dengan suhu untuk pertumbuhan yang berkisar antara 18-37°C. Bakteri ini tumbuh baik pada jenis media yang mengandung garam mineral dan asparagin sebagai sumber karbon dan nitrogen. Pada media TCBS (*thiosulfate-citrate-bile-sucrose*) pertumbuhan *V. cholerae* akan menjadi lebih baik dan cepat, menghasilkan koloni berbentuk bulat, berwarna kuning, berdiameter 1-3 mm dan mukoid sehingga dapat dibedakan dari koloni bakteri lain untuk memudahkan dalam proses isolasinya.

V. cholerae dapat juga tumbuh pada pH yang sangat tinggi (8,5-9,5), namun umumnya bakteri ini memerlukan pH yang netral untuk pertumbuhan dengan kecepatan optimum dan pada pH asam akan mengalami laju kematian yang sangat cepat.

V. cholerae memfermentasi sukrosa dan maltosa tanpa menghasilkan gas pada media TCBS (*thiosulfate-citrate-bile-sucrose*). Bakteri ini akan tumbuh dengan baik pada media APW (*alkali pepton water*) setelah 6 jam masa inkubasi pada suhu kamar sehingga media ini dipakai untuk media transport.

Secara alamiah, bakteri *V. cholerae* patogen terhadap manusia. Bakteri ini sangat sensitif dengan asam karena bakteri ini tidak tahan asam dan panas. Apabila seseorang mengonsumsi makanan yang mengandung bakteri sebanyak 10²-10⁴ sel/gram pada makanan maka seseorang dengan asam lambung yang normal akan terinfeksi oleh *Vibrio*.

Sebagian besar infeksi disebabkan oleh *V. cholerae* simptomatik atau diare yang ringan pada pasien. Gejala akan timbul setelah 1-4 hari masa inkubasi terlampaui. Munculnya diare encer yang

berlimpah tanpa didahului oleh rasa mulas dan tanpa adanya tenesmus merupakan gejala paling khas timbul bila terinfeksi oleh bakteri ini. Diare yang semula berwarna dan berbau dalam waktu singkat akan berubah menjadi cairan putih keruh serupa dengan air cucian beras yang mengandung mucus, sel-sel epitel. Selanjutnya akan timbul gejala mual-mual setelah diare diikuti dengan muntah dan biasanya kejang otot-otot betis, biceps, triceps, pektoralis, dan kram perut.

Pada umumnya bakteri ini tidak bersifat invasif dan tetap berada di saluran pencernaan penderita yang terinfeksi kuman ini. Toksin yang dikeluarkan oleh spesies ini akan diabsorpsi kedalam sel-sel epitel dan merangsang hipersekresi air pada bagian pencernaan khususnya usus halus. Akibatnya tubuh akan mengalami perdarahan dan kekurangan elektrolit yang mengakibatkan diare, dehidrasi, asidosis, syok bahkan sampai kematian. Bakteri *V. cholerae* paling banyak terdapat pada perairan yang tercemar oleh limbah industri, limbah rumah tangga, dan kotoran. Penyebaran bakteri *V. cholerae* berasal dari hasil perikanan yang terkontaminasi bakteri ini.

4. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) adalah salah satu bakteri yang termasuk golongan coliform dan hidup normal di dalam kotoran manusia maupun hewan, oleh karena itu disebut juga koliform fekal. *E. coli* adalah bakteri bersifat gram negatif, berbentuk batang dan tidak membentuk spora. *E. coli* umum ditemukan dalam air, sehingga keberadaannya dalam air dapat dianggap sebagai petunjuk terjadinya pencemaran kotoran dalam arti luas, baik dari kotoran hewan maupun manusia.

E. coli hidup dalam jumlah besar di dalam usus manusia, yaitu untuk membantu sistem pencernaan manusia dan melindungi dari bakteri patogen. Namun pada strain baru dari *E.coli* merupakan patogen berbahaya yang menyebabkan penyakit diare.

Patogenesis *E. coli* merupakan flora normal saluran pencernaan. Flora normal adalah mikroba yang secara alamiah menghuni tubuh manusia, akan tetapi mempunyai potensi menimbulkan penyakit. Bakteri ini menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus dan menghasilkan enterotoksin yang dapat menyebabkan diare. Penularan bakteri *E. coli* melalui makanan mentah dan air, makanan yang kurang matang dan kontaminasi, yaitu apabila makanan yang sudah dimasak bersentuhan dengan bahan mentah atau peralatan yang terkontaminasi. *E. coli* dapat berpindah karena adanya kegiatan seperti dari tangan ke mulut atau dengan pemindahan melalui air. Strain tertentu dapat menyebabkan peradangan selaput perut dan usus. *E. coli* menjadi patogen berbahaya apabila hidup di luar usus seperti pada saluran kemih, yang dapat mengakibatkan peradangan selaput lender.

E. coli memiliki beberapa jenis spesies yang hidup dalam saluran pencernaan manusia dan hewan, dengan diketahuinya bahwa jasad tersebut tersebar pada semua individu, analisis bakteriologi terhadap air minum ditujukan kepada kehadiran jasad tersebut dalam air. Walaupun adanya jasad yang terdapat dalam air, itu belum bisa memastikan bahwa jasad tersebut patogen.

E. coli menyebabkan gangguan pada sistem pencernaan pada manusia diantaranya disebabkan oleh *enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), *diffuse adherent Escherichia coli* (DAEC), *enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC), *enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC),

enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) dan *enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC).

B. Infeksi Pada Darah

1. *Salmonella*

Bakteri *Salmonella sp.* berada pada family *Enterobacteriaceae*. Klasifikasi dari *Salmonella sp.* dapat dibagi berdasarkan spesies, subspecies dan serotipe. Genus *Salmonella* terbagi ke dalam 2 spesies yakni : *Salmonella enteric* dan *Salmonella bongori*. Spesies *Salmonella enterica* dibagi lagi menjadi 6 subspecies yaitu : *subspecies enteric* atau subspecies I; *subspecies salamae* atau *subspecies II*; *arizonae* atau IIIa; *diarizonae* atau IIIb; *boutenae* atau IV; *indica* atau VI.

Secara umum organisme yang berasal dari genus *Salmonella* merupakan sumber penyebab berbagai macam infeksi, mulai dari gastroenteritis ringan sampai berat seperti demam tifoid dan bakterimia. *Salmonella* adalah agen penyebab salmonellosis yaitu penyakit endemis dan menimbulkan kerugian yang besar di Indonesia.

Bakteri *Salmonella typhi* dapat berkembang biak dan hidup di dalam makrofag selanjutnya dibawa ke *Plaque Peyeri Ileum Distal*, kemudian menuju kelenjar getah bening mesenterika. Melalui duktus torasikus bakteri masuk ke dalam sistem peredaran darah sehingga menyebabkan bakterimia (asimtomatik) dan demam tifoid. Bakterimia dikatakan asimtomatik karena baru pertama terjadi kurang lebih 24-72 jam setelah bakteri tertelan dan biasanya tanpa gejala sebab bakteri langsung ditangkap oleh sel-sel sistem retikulo endotelial tubuh yang utama yaitu hati, limpa dan sumsum tulang. Pada organ ini, bakteri akan meninggalkan makrofag dan kemudian berkembang biak diluar sel (ruang sinusoid), selanjutnya menuju ke dalam sirkulasi darah lagi yang menyebabkan bakterimia kedua kalinya dengan tanda dan gejala infeksi sistemik.

Dalam hati, bakteri masuk ke dalam kandung empedu dan berkembang biak. Secara berselang akan diekskresikan bersama

dengan cairan empedu ke dalam lumen usus. Kurang lebih separuh bakteri dikeluarkan bersama feses dan separuhnya lagi masuk ke dalam sirkulasi menembus usus. Proses yang sama diawal terulang kembali, akibat aktivasi makrofag maka saat fagositosis bakteri *Salmonella* terjadi pelepasan beberapa mediator inflamasi yang menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik yakni; demam, malaise, mialgia, sakit perut, sakit kepala, instabilitas vascular, gangguan mental dan koagulasi.

2. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri gram negatif (-), berbentuk batang pendek, memiliki ukuran 0,5 μm x 1,2 μm . Bakteri ini memiliki kapsul, tetapi tidak membentuk spora. *Klebsiella pneumoniae* tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagel tetapi mampu memfermentasikan karbohidrat membentuk asam dan gas. Berdasarkan kebutuhannya akan oksigen, *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri fakultatif anaerob. *Klebsiella pneumoniae* dapat memfermentasikan laktosa. Spesies *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan pertumbuhan mucoid, kapsul polisakarida yang besar dan tidak motil.

Klebsiella pneumoniae bisa didapatkan dari sampel darah, urin, cairan pleura, dan luka untuk pewarnaan Gram. Berbagai metode yang telah ada dilakukan untuk mendeteksi keberadaan bakteri jenis ini, di antaranya adalah pewarnaan gram, difusi cakram, PCR, SPC, *western blot*, *kit diagnostic*, dan *Epsilometer test*. Namun, dari metode konvensional dan instrumental tersebut perlu dipilih satu metode yang paling baik dan cocok untuk mendeteksi *Klebsiella pneumoniae* ini agar dapat memudahkan dalam proses identifikasi *Klebsiella pneumoniae*.

Metode pertama, dengan metode konvensional menggunakan kultur bakteri. Metode ini dilakukan dengan mengencerkan sampel mengandung *Klebsiella pneumoniae* kemudian dikultur pada media biakan agar selektif bakteri gram negatif (McConkey Agar dan EMB Agar) dengan tujuan seleksi bakteri gram negatif dan positif dapat teridentifikasi pertumbuhannya melalui seleksi media agar.

Kemudian, diinkubasi pada suhu 25-30°C yang merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan bakteri gram negatif selama 1-2 hari, kemudian koloni yang timbul diamati dan dianalisis menggunakan SPC (*Standard Plate Count*). Hasil positif menunjukkan adanya koloni bakteri berwarna merah muda.

Selanjutnya, metode imunositokimia, yaitu dengan tahapan awal mengisolasi protein dari *outer membrane protein Klebsiella pneumoniae* dengan cara penambahan PBS dan NOG 0,5%, kemudian disentrifugasi 12000 rpm dan diambil supernatannya. Selanjutnya, dilakukan metode SDS-PAGE untuk menentukan spesifitas bakteri ini dengan membandingkan hasilnya dengan bakteri lain. Selanjutnya, dilakukan elektroelusi untuk mendapatkan protein sampel murni pertumbuhan dan penyebaran bakteri ini pun dapat dihambat agar menurunkan prevalensi penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini dengan cara memotong horizontal gel protein yang dimaksud. Lalu, setiap potongan dipotong kembali vertikal dan dimasukkan ke dalam membran dialisis berisi buffer elektroforesis. Hasil elusi didialisis selama 48 jam dengan cairan H₂O pada 24 jam pertama dan PBS pH 7,4 pada 24 jam kedua masing-masing pada suhu 4°C. Hasil elektroforesis diamati dan dibandingkan dengan standard sebagai kontrol positif.

Metode selanjutnya adalah menggunakan kit diagnostic bernama *Primerdesign genesig Kit for K. pneumoniae*. Kit ini ditujukan untuk identifikasi seluruh jenis isolat *Klebsiella pneumoniae*, termasuk jenis baru *Klebsiella* yang memiliki strain mirip dengan yang sudah ada.

C. Infeksi Pada Saluran Kemih

1. *Enterobacteriaceae*

Enterobacteriaceae adalah bakteri yang hidup di usus besar manusia dan hewan, tanah, air dan dapat pula ditemukan pada komposisi material. Sebagian bakteri enterik ini tidak menimbulkan penyakit pada host bila bakteri tetap berada di dalam usus besar, tetapi pada keadaan-keadaan dimana terjadi perubahan pada host

atau bila ada kesempatan memasuki bagian tubuh yang lain, banyak diantara bakteri ini mampu menimbulkan penyakit pada tiap jaringan tubuh manusia. Organisme-organisme di dalam famili ini pada kenyataannya mempunyai peranan penting di dalam infeksi nosokomial misalnya sebagai penyebab infeksi saluran kemih, infeksi pada luka, dan infeksi lainnya.

Morfologi *Enterobacteriaceae* adalah bakteri berbentuk batang pendek dengan ukuran $0,5 \mu\text{m} \times 3,0 \mu\text{m}$, gram negatif, tidak berspora, gerak positif dengan flagel peritrikh (*Salmonella*, *Proteus*, *Escherichia*) atau gerak negatif (*Shigella*, *Klebsiella*), mempunyai kapsul/selubung yang jelas seperti pada *Klebsiella* atau hanya berupa selubung tipis pada *Escherichia* atau tidak berkapsul sama sekali. Sebagian besar spesies mempunyai fili atau fimbriae yang berfungsi sebagai alat perlekatan dengan bakteri lain.

2. *Escherichia coli*

Bakteri ini berbentuk batang pendek, gemuk, berukuran $2,4 \mu\text{m} \times 0,4 \mu\text{m}$ sampai $0,7 \mu\text{m}$, gram negatif, tak berspora, bergerak aktif dan tidak berspora. Patogenesis *E. coli* adalah penyebab yang paling umum dari infeksi saluran kemih dan merupakan penyebab infeksi saluran kemih pertama pada kira-kira 90% wanita muda. Gejala dan tanda-tandanya antara lain sering kencing, disuria, hematuria, dan piuria. Nyeri pinggang berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas. Tak satupun dari gejala atau tanda-tanda ini bersifat khusus untuk bakteri *E. coli*. Infeksi saluran kemih dapat mengakibatkan bakteremia dengan tanda-tanda khusus sepsis.

E. coli yang nefropatogenik secara khas menghasilkan hemolisin. Kebanyakan infeksi disebabkan oleh *E. coli* dengan sejumlah kecil tipe antigen O. Antigen K tampaknya penting dalam patogenesis infeksi saluran atas. Pielonefritis berhubungan dengan jenis pilus khusus, pilus P yang mengikat zat golongan darah P.

Infeksi saluran kemih misalnya sistitis, pielitis dan pielonefritis. Infeksi dapat terjadi akibat sumbatan saluran kemih karena adanya pembesaran prostat, batu dan kehamilan. *E. coli* yang biasa menyebabkan infeksi saluran kemih ialah jenis 01, 2, 4, 6, dan 7.

Jenis-jenis pembawa antigen K dapat menyebabkan timbulnya pielonefritis.

D. Infeksi Pada Saluran Pernapasan

1. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan salah satu spesies pada bakteri kelompok bakteri *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini berada dalam sistem pernafasan dan tinja kurang lebih pada 5% individu normal. Hal tersebut menyebabkan sebuah proporsi kecil (kira-kira 1%) dari radang paru-paru. Bakteri ini biasanya menyebabkan infeksi pada orang-orang yang immunokompromais seperti alkoholis, diabetes mellitus, dan penyakit paru kronik.

Klebsiella pneumoniae adalah bakteri gram negatif berbentuk batang yang tidak dapat melakukan pergerakan (nonmotil). Berdasarkan kebutuhannya akan oksigen, bakteri ini termasuk anaerob fakultatif. Patogenitasnya ditentukan oleh antigen O, yaitu lipopolisakarida yang terdapat pada sembilan varietas; dan antigen K, yaitu polisakarida yang dikelilingi oleh kapsul dengan lebih dari 80 varietas.

Infeksi *Klebsiella pneumoniae* dapat diobati dengan antibiotik, khususnya antibiotik yang mengandung cincin beta laktam, seperti golongan penisilin dan sefalosporin. Akan tetapi beberapa strain dari bakteri ini mampu memproduksi enzim ESBL (*extended spectrum beta-lactamase*) yang dapat melumpuhkan beberapa kerja antibiotik, seperti beta laktam aminoglikosida, dan trimetoprim-sulfametoksazol. Aktivitas ini diatur oleh gen *ampC*, gen yang terdapat dalam plasmid, yang mengalami mutasi pada beberapa strain *K. pneumoniae*. Distribusi strain resistensi ini berbeda pada setiap spesimen. Sekitar 1 sampai 6% isolat *K. pneumoniae* yang berasal dari nasofaring memproduksi enzim ESBL, 8.3% dari tinja, 8.5% dari urin, dan 16.6% dari saluran napas.

Klebsiella pneumoniae dapat menimbulkan konsolidasi hemoragik intensif pada paru-paru, bronkitis kronik, infeksi sekunder, dan

pneumonia lobaris. Pneumonia yang disebabkan oleh bakteri ini dapat bersifat pneumonia komunitas maupun pneumonia nosokomial. Kadang-kadang menyebabkan infeksi sistem saluran kemih dan bakteremia dengan luka yang melemahkan pasien.

2. *Mycobacterium tuberculosis*

Tuberkulosis adalah suatu penyakit menular yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Terdapat beberapa spesies *Mycobacterium*, antara lain: *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. leprae* dan sebagainya, yang dikenal sebagai Bakteri Tahan Asam (BTA). Selain *Mycobacterium tuberculosis* yang dapat menyebabkan gangguan pernapasan, ada pun MOTT (*Mycobacterium Other Than Tuberculosis*) yang bisa mengganggu diagnosis dan pengobatan TBC.

Kuman tuberkulosis menular melalui udara. Apabila penderita TB batuk atau bersin, ia akan menyebarkan 3.000 kuman ke udara. Kuman tersebut ada dalam percikan dahak, yang disebut dengan *droplet nuclei*. Percikan dahak yang amat kecil ini melayang-layang di udara dan mampu menembus dan bersarang dalam paru orang-orang di sekitarnya. Di perumahan yang bersih sekalipun, penularan kuman TB dapat tersebar karena penularannya yang melalui udara.

Gejala yang ditimbulkan penyakit tuberkulosis yaitu batuk berdahak selama 2 minggu atau lebih. Batuk yang dialami dapat disertai dengan dahak bercampur darah, batuk darah, sesak nafas, badan lemas, nafsu makan menurun, berat badan menurun, malaise, berkeringat malam hari tanpa kegiatan fisik, demam lebih dari satu bulan.

Jenis Pemeriksaan Tuberkulosis

1. Pemeriksaan Bakteriologik

Cara pengambilan dahak 3 kali (SPS) :

- (1) Sewaktu/spot (dahak sewaktu saat kunjungan)
- (2) Pagi (keesokan harinya)
- (3) Sewaktu/spot (pada saat mengantarkan dahak pagi) atau setiap pagi 3 hari berturut-turut.

Bahan pemeriksaan/spesimen yang berbentuk cairan dikumpulkan/ditampung dalam pot yang bermulut lebar, berpenampang 6 cm atau lebih dengan tutup berulir, tidak mudah pecah dan tidak bocor. Apabila ada fasilitas, spesimen tersebut dapat dibuat sediaan apus pada gelas objek (difiksasi) sebelum dikirim ke laboratorium.

Bahan pemeriksaan hasil BJH, dapat dibuat sediaan apus kering di gelas objek, atau untuk kepentingan biakan dan uji resistensi dapat ditambahkan NaCl 0,9% 3-5 ml sebelum dikirim ke laboratorium.

Spesimen dahak yang ada dalam pot (jika pada gelas objek dimasukkan ke dalam kotak sediaan) yang akan dikirim ke laboratorium, harus dipastikan telah tertulis identitas pasien yang sesuai dengan formulir permohonan pemeriksaan laboratorium. Bila lokasi fasilitas laboratorium berada jauh dari klinik/tempat pelayanan pasien, spesimen dahak dapat dikirim dengan kertas saring melalui jasa pos.

Pemeriksaan bakteriologi dari spesimen dahak dan bahan lain (cairan pleura, liquor cerebrospinal, bilasan bronkus, bilasan lambung, kurasan bronkoalveolar/BAL, urin, feces dan jaringan biopsi, termasuk BJH) dapat dilakukan dengan cara : **Mikroskopik dan Biakan.**

(1) Pemeriksaan mikroskopik

Mikroskopik biasa : pewarnaan Ziehl-Nielsen.

Interpretasi hasil pemeriksaan dahak dari 3 kali pemeriksaan ialah bila :

- 3 kali positif atau 2 kali positif, 1 kali negatif ® BTA positif
- 1 kali positif, 2 kali negatif ® ulang BTA 3 kali, kemudian
- bila 1 kali positif, 2 kali negatif ® BTA positif
- bila 3 kali negatif ® BTA negative

Scala IUATLD (*International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*) :

- Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang, disebut negatif
- Ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang, ditulis jumlah kuman yang ditemukan.
- Ditemukan 10-99 BTA dalam 100 lapang pandang, disebut + (1+)
- Ditemukan 1-10 BTA dalam 1 lapang pandang, disebut ++ (2+)
- Ditemukan >10 BTA dalam 1 lapang pandang, disebut +++ (3+)

(2) Pemeriksaan biakan kuman :

Pemeriksaan biakan *M. tuberculosis* dengan metode konvensional ialah dengan cara :

- Egg base media :Lowenstein-Jensen (dianjurkan), Ogawa, Kudoh

- Agar base media : Middle brook

Melakukan biakan dimaksudkan untuk mendapatkan diagnosis pasti, dan dapat mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dan juga *Mycobacterium other than tuberculosis* (MOTT). Untuk mendeteksi MOTT dapat digunakan beberapa cara, baik dengan melihat cepatnya pertumbuhan, menggunakan uji nikotinamid, uji niasin maupun pencampuran dengan *cyanogen bromide* serta melihat pigmen yang timbul. Selain pemeriksaan mikrobiologi, diagnosis TB dapat ditegakkan dengan pemeriksaan lain antara lain yaitu :

- Pemeriksaan radiologi

- Pemeriksaan khusus (BACTEC dan PCR)
- Pemeriksaan serologi (ELISA, ICT, Mycodot, PAP, Uji serologi Ig TB).

3. *Corynebacterium diphtheria*

Penyakit difteri merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Corynebacterium diphtheria* dari biotipe gravis, mitis atau intermedius. Bakteri ini terutama menyerang tonsil, faring, laring, hidung, ada kalanya menyerang selaput lendir atau kulit serta kadang-kadang konjungtiva atau vagina. Gejala difteri adalah tenggorokan terasa sakit, timbul lesi membran diikuti dengan kelenjar limfe yang membesar dan melunak. Pada kasus yang sedang sampai berat ditandai dengan pembengkakan dan oedema di leher dengan pembentukan membran pada trakea secara ekstensif dan dapat terjadi obstruksi jalan napas.

Pemeriksaan laboratorium terdiri dari pemeriksaan mikroskopik, kultur, uji biokimia dan uji toksigenitas. Pertama spesimen swab tenggorok diinokulasi pada medium selektif *cystine tellurite blood agar* (CTBA), inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Adanya koloni yang diduga koloni *C. diphtheriae* pada medium CTBA dengan ciri koloni bulat, hitam keabuan divalidasi dengan pemeriksaan mikroskopik menggunakan pewarnaan Albert.

Morfologi *C. diphtheriae* secara mikroskopik menunjukkan gambaran bentuk batang dengan pembesaran (granul) pada salah satu atau kedua ujungnya. Pengujian dilanjutkan dengan uji biokimia dan uji toksigenitas.

Uji biokimia dilakukan dengan melakukan inokulasi kembali koloni yang diduga pada medium CTBA ke medium agar darah. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan uji biokimia menggunakan produk komersial API Coryne dan dianalisis dengan software komputer dari pabrikan. Setelah dipastikan bahwa bakteri yang diperiksa adalah *Corynebacterium diphtheriae*, dilakukan uji toksigenitas untuk mengetahui kemampuan

bakteri mengeluarkan toksin difteri yang merupakan faktor virulensi utama bakteri tersebut.

Uji toksigenisitas untuk difteri dilakukan dengan metode *Polimerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan Salah satu pasangan primer dengan target gen *tox* (dtx).

Daftar Pustaka

- Albert, H. (1920). Diphtheria bacillus stains with a description of A "new" one. *The American Journal Of Public Health*. 10(4):334-337.
- Amelia, S. (2005). *Vibrio Cholerae*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Anderson, K.F., Lonsway, D.R. & Rasheed, J.K. (2007). Evaluation of methods to identify the Klebsiella pneumoniae carbapenemase in Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol*, 45, pp.2723-2725.
- Anderson, K.F., Patel, J.B. & Wong, B. (2009). Characterization of Enterobacteriaceae with a falsepositive modified Hodge test, Abstracts of the Forty-ninth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *American Society for Microbiology*, pp.719-41.
- Drijman, M. E. Balon., D. Byod., C. M, Fraser., J. F, Heidelberg, and J. J. Mekalanos. (2002). Comparative Genomic Analysis Of Vibrio cholera Genes That Correlate With Cholera Endemic and Pandemic Diseases. *Proceeding Of The National Academy Of Sciences*, 99(2): 1556-1561.
- Elfidasari, D. (2011). Perbandingan Kualitas Es di Lingkungan Universitas Al Azhar Indonesia dengan Restoran Fast Food di Daerah Senayan dengan Indikator Jumlah Escherichia coli Terlarut. *Jurnal Al Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi* 3(1) : 18-23.
- Jawetz, Melnick & Adelbeg's. (2010). *Medical Microbiology 25th edition Chapter 15*. New York : McGraw Hill Companies.
- Kementerian Kesehatan RI. (2018). *Infodatin Tuberkulosis 2018*. Pusat Data dan Informasi - Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Lee, K., Chong, Y. & Shin, H.B. (2001). Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- β lactamase-

- producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect*, 7, pp.88-91.
- Matson, J.S., H.H. Withey, and V.J. Dirita. (2007). Regulatory Networks Controlling *Vibrio Cholerae* Virulence Gene Expression. *American Society for Microbiology*, 64(4): 5542-5549.
- Mau, F. D., Darmawati, S., Dewi, S. S. (2018). *Efektivitas Madu Hutan Pulau Alor Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus MRSA dan Escherichia coli*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Nelwan, R.H.H. (2007). *Demam: Tipe dan Pendekatan dalam Sudoyo, Aru W. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi IV*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
- Nuha, U. (2013). *Identifikasi dan Karakteristik Escherechia coli pada Jus Buah yang Dijual di Sekitar Kampus Universitas Jember dan Pemanfaatannya Sebagai Buku Suplemen*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Negeri Jember, Jember. Hal : 51-61.
- Nurdin, F. (2009). *Pola Kepekaan Bakteri Gram Negatif dari Pasien Infeksi Saluran Kemih terhadap Antibiotik Golongan Flourokuinolon*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Osawa. (2008). *Osawa sensei's Vibrio cholerae Isolation Protocol for Environmental Samples (Seafood and River or Melted Ice Water)*. Japan : KOBE University.
- Podschun & Ullmann. (1998). *Klebsiella spp. As Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing methods, and Pathogenicity Factors*. *Clinical Microbiology Reviews*, 10, pp.589-603.
- Purwoko. T. (2007). *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Rini, Chylen Setiyo dan Jamilatur Rohmah. (2020). *Bahan Ajar Mata Kuliah Bakteriologi Dasar*. Sidoarjo: Umsida Press.
- Ryan KJ, Ray CG. (2014). *Sherris Medical Microbiology 6th edition*. New York : McGraw-Hill.p.579.
- Sariadji, K., Sunarno, Putranto, R. H. (2014). Penerapan Diagnostik Laboratorium pada Kasus Tersangka Positif Difteri pada

Kejadian Luar Biasa di Kota Pontianak, Kalimantan Barat.
Jurnal Biotek Medisiana Indonesia. Vol.3.1.2014:31-35.

Subekti, R.(2009). *Pola Kepekaan Bakteri Gram Negatif pada Infeksi Saluran Napas Bawah terhadap Seftriakson*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.

Tentang Penulis



Herlina. lahir di Jakarta 20 Februari 1974. Menempuh jenjang pendidikan S1 di Universitas Indonesia lulus tahun 2001. Pendidikan S2 di Universitas Respati Indonesia Jakarta lulus tahun 2014. Bekerja di RSPI Prof Dr. Sulianti Saroso sejak tahun 1997 pada bagian laboratorium mikrobiologi hingga tahun 2009 dan setelah itu bertugas di bagian manajemen penyakit infeksi dan penyakit menular hingga tahun 2020. Tahun 2020 ditugaskan di bagian surveilans epidemiologi hingga saat ini (2023). Selain itu juga menjadi staf pengajar di Universitas Prof Dr. Hamka Program Studi Analisis Kesehatan sejak tahun 2016 hingga saat ini (2023) dengan menjadi dosen pengampu beberapa mata kuliah dan salah satunya adalah mata kuliah bakteriologi klinis (herlinadwinanto@gmail.com, no WhatsApp 081519652397).

BAB 9

PENYEBARAN DAN PENGENDALIAN BAKTERI

A. Penyebaran Bakteri

Penyebaran bakteri dapat terjadi secara langsung atau melalui perantara. Penyebaran secara langsung terjadi melalui kontak langsung secara fisik, misalnya hubungan seksual, terkena luka terbuka dan masuk melalui membran mukosa, seperti selaput lendir, mata dan hidung. Metode penyebaran secara langsung dapat terjadi antara manusia dengan manusia, manusia dengan hewan dan melalui ibu ke bayi yang dikandungnya.

Penyebaran secara tidak langsung merupakan proses penyebaran bakteri melalui perantara. Metode penyebaran tidak langsung diantaranya:

1) Penyebaran melalui udara (*airborne diseases*)

Bakteri yang menginfeksi pernafasan seperti bakteri *Mycobacterium tuberculosis* umumnya melakukan penyebaran melalui udara. Bakteri akan keluar dan menyebar bersama dengan percikan (*droplet*) ketika bersin atau batuk. *Droplet* yang dikeluarkan dari manusia yang terinfeksi dapat menyebar dengan sangat cepat, apabila terkena ke dalam membran mukosa manusia maka bakteri tersebut akan menularkan ke manusia yang sehat.

2) Penyebaran melalui makanan (*foodborne diseases*)

Penyebaran bakteri juga dapat melalui makanan atau minuman yang dikonsumsi, seperti *Salmonella* sp., *E. coli*, *Clostridium* sp., dan *Vibrio cholerae*. Penyebaran terjadi apabila makanan atau minuman tidak dimasak dengan matang atau tidak higienis, sehingga bakteri tidak sepenuhnya mati dan dapat melakukan penyebaran.

3) Penyebaran melalui benda yang terkontaminasi

Bakteri dapat bertahan di permukaan benda selama beberapa waktu. Apabila seseorang mengeluarkan *droplet* atau pekerja medis melakukan kelalaian bekerja di rumah sakit, dapat menjadi sarana penyebaran bakteri. Penyebaran dapat terjadi akibat tusukan (tetanus) atau tersentuh benda yang terkontaminasi.

4) Penyebaran melalui serangga

Serangga berperan sebagai vektor dalam penyebaran bakteri. Kecoak dan lalat merupakan vektor untuk infeksi disentri, kolera dan diare.

B. Pengendalian Bakteri

Pengendalian bakteri merupakan upaya yang dilakukan untuk menghambat dan menekan jumlah bakteri, sehingga dapat mengurangi infeksi dan kerugian yang ditimbulkan. Pengendalian bakteri sangat penting dilakukan agar dapat menekan penyebaran penyakit, membunuh bakteri yang menginfeksi tubuh manusia dan untuk mencegah terjadinya pembusukan bahan makanan yang disebabkan oleh mikroba khususnya bakteri.

C. Istilah - Istilah Khusus dalam Pengendalian Bakteri

Istilah – istilah khusus dalam pengendalian bakteri digunakan untuk memudahkan pemahaman dalam proses pengendalian. Beberapa istilah tersebut diantaranya:

1) Sterilisasi

Sterilisasi adalah proses untuk menghancurkan segala bentuk kehidupan. Suatu alat atau bahan dikatakan steril apabila tidak terdapat mikroorganisme hidup di dalam atau dipermukaannya.

2) Sanitasi

Sanitasi merupakan usaha yang dilakukan untuk mengurangi populasi mikroorganisme sampai batas tertentu yang dianggap aman.

3) Desinfektan

Desinfektan merupakan bahan kimia yang mampu membunuh seluruh atau sebagian besar mikroorganisme pada benda mati, seperti meja kerja, alat-alat mikrobiologi, lantai dan pakaian. Desinfektan dapat menghancurkan sel vegetatif bakteri, tetapi tidak dapat menghancurkan spora

sepenuhnya. Proses pengendalian bakteri menggunakan bahan kimia disebut dengan **desinfeksi**.

4) Antiseptik

Antiseptik merupakan bahan kimia yang dapat membunuh mikroorganisme pada jaringan hidup. Antiseptik mampu melawan atau menghilangkan sepsis (infeksi) pada jaringan hidup.

5) Bakterisida

Agen yang mampu membunuh bentuk vegetatif bakteri.

6) Bakteriostatik

Agen yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi tidak sampai membunuh.

D. Faktor yang Mempengaruhi Efektivitas Antimikroba

Faktor yang dapat mempengaruhi kerja suatu antimikroba dalam menghambat atau membunuh bakteri harus diperhatikan agar proses pengendalian bakteri dapat dilakukan secara optimum. Faktor-faktor tersebut diantaranya:

1) Jumlah Bakteri

Semakin banyak jumlah bakteri pada suatu tempat, maka akan semakin banyak waktu yang dibutuhkan untuk mengurangi jumlah populasi bakteri tersebut.

2) Jenis Bakteri

Proses pengendalian akan lebih sulit dan lama apabila terdapat lebih dari satu jenis bakteri. Bakteri yang memiliki spora dan kapsul akan lebih sulit untuk dibunuh dan dikendalikan dibandingkan dengan bakteri yang tidak memiliki spora dan kapsul.

3) Waktu Kontak

Semakin lama paparan antimikroba yang dilakukan, maka akan semakin banyak bakteri yang terbunuh.

4) Lingkungan

Lingkungan yang terdapat bahan organik seperti darah, feses dan saliva akan menghambat kemampuan antimikroba. Hal ini disebabkan karena bahan organik dan zat antimikroba dapat membantum endapan, sehingga antimikroba tidak mampu lagi mengikat bakteri. Selain itu akumulasi bahan organik pada permukaan bakteri dapat menjadi pelindung agar tidak terjadi kontak langsung dengan zat antimikroba.

E. Pengendalian Bakteri Secara Fisika

Pengendalian bakteri secara fisika dilakukan dengan cara penggunaan suhu (pemanasan atau pendinginan), tekanan osmotik, radiasi dan filtrasi.

1) Suhu

Suhu sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Suhu yang terlalu rendah dapat menurunkan metabolisme bakteri, sehingga pertumbuhannya melambat. Sedangkan suhu tinggi dapat mematikan bakteri karena protein pada bakteri terdenaturasi dan enzim menjadi rusak. Pengendalian bakteri menggunakan suhu dapat dilakukan dengan cara panas lembab, air mendidih, pasteurisasi, panas kering dan suhu rendah.

2) Panas lembab

Pengendalian bakteri dengan teknik panas lembab dapat menggunakan autoklaf, yaitu alat yang memiliki prinsip panas tinggi bertekanan. Autoklaf mampu memanaskan sampai suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm. Tekanan yang tinggi dapat meningkatkan suhu melebihi suhu didih air karena penguapan.

3) Air mendidih

Perebusan alat atau bahan di dalam air mendidih dapat dilakukan sebagai upaya pengendalian bakteri. Sel – sel vegetatif bakteri dapat mati karena proses perebusan tetapi tidak dapat membunuh spora.

4) Pasteurisasi

Pasteurisasi biasanya dilakukan untuk mensterilisasi bahan makanan atau minuman. Teknik pasteurisasi ada bermacam-macam, diantaranya menggunakan suhu 65 °C selama 30 menit. Pasteurisasi *High Temperature Short Time Pasteurization* (HTSTP) menggunakan suhu 72°C selama 15 detik. *Ultra High Temperature Pasteurization* (UHT) merupakan pasteurisasi menggunakan suhu 140 °C selama 3 detik, kemudian dilanjutkan dengan pendinginan pada ruang hampa udara.

5) Panas kering

Pengendalian bakteri dengan panas kering dapat dilakukan dengan menggunakan udara panas (oven) dan pembakaran. Udara panas digunakan untuk mensterilkan alat-alat yang tahan panas seperti alat yang terbuat dari gelas dan keramik. Suhu yang digunakan untuk sterilisasi adalah 60 – 180°C. Pembakaran atau pemijaran dilakukan untuk mensterilkan alat yang terbuat dari platina atau nikon, seperti jarum ose.

6) Suhu rendah

Suhu rendah atau pendinginan dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, pengawet makanan. Suhu rendah tidak dapat digunakan untuk sterilisasi

karena bakteri mampu bertahan pada suhu 3 – 7°C selama berbulan-bulan.

7) Tekanan osmotik

Tekanan osmotik adalah besarnya tekanan yang diberikan kepada suatu larutan agar molekul – molekul pelarut tidak dapat mengalir ke larutan melalui membran semi permeabel. Apabila bakteri berada pada lingkungan dengan kadar garam (NaCl) yang tinggi, maka bakteri akan mengalami plasmolisis, yaitu air akan keluar meninggalkan sel bakteri. Apabila bakteri berada pada lingkungan dengan kadar garam (NaCl) yang sangat rendah maka bakteri akan mengalami plasmoptosis, yaitu masuknya air dari lingkungan ke dalam sel bakteri sehingga mengakibatkan sel bakteri pecah.

8) Radiasi

Radiasi mampu membuat kerusakan pada sel bakteri, sehingga dapat digunakan sebagai teknik pengendalian. Radiasi yang biasanya digunakan untuk sterilisasi adalah sinar UV dan sinar X. Panjang gelombang pada sinar UV yang efektif untuk mematikan bakteri adalah berkisar antara 260 - 270 nm. Sinar UV mampu merusak asam nukleat bakteri. Daya tembus sinar UV sangat rendah, sehingga hanya efektif membunuh bakteri yang berada dipermukaan alat.

9) Filtrasi

Sterilisasi alat dan bahan yang rentan terhadap suhu dan bahan kimia dapat digunakan dengan metode penyaringan. Filtrasi atau penyaringan bakteri dilakukan dengan

menggunakan membran filter dengan pori-pori sebesar 0,22 – 0,45 μm .

F. Pengendalian Bakteri Secara Kimia

Pengendalian bakteri secara kimia dilakukan dengan menggunakan bahan kimia sebagai agen pembunuh bakteri. Bahan kimia yang digunakan harus memiliki daya bunuh yang tinggi, memiliki senyawa kimia yang stabil terutama apabila berada dalam senyawa organik dan logam, bahan dasar yang murah dan tidak mengakibatkan kerugian atau kerusakan bagi pengguna. Bahan kimia yang umum digunakan adalah alkohol, fenol, aldehid dan iodine.

1) Alkohol

Alkohol hanya efektif digunakan pada bagian permukaan saja, karena alkohol tidak dapat menembus ke dalam senyawa organik. Alkohol hanya dapat membunuh jamur dan sel vegetatif bakteri. Alkohol tidak dapat membunuh virus dan spora. Mekanisme alkohol dalam membunuh bakteri adalah dengan mendenaturasi protein, melarutkan lemak dan merusak membran sel. Konsentrasi alkohol yang dapat membunuh bakteri adalah berkisar 60 – 95%, tetapi konsentrasi yang biasa digunakan sebagai desinfektan adalah 70%.

2) Fenol

Fenol dapat menghambat pembentukan membran sel, menginaktifkan enzim dan mendenaturasi protein. Fenol dapat mempertahankan kestabilannya pada bahan organik, sehingga sampai saat ini fenol merupakan bahan kimia terbaik sebagai desinfektan. Fenol biasanya dikombinasikan

dengan deterjen untuk meningkatkan proses pembersihan. Fenol tidak dapat digunakan untuk antiseptik, karena fenol dapat mengakibatkan iritasi apabila terkena kulit atau selaput lendir. Fenol juga tidak boleh digunakan pada permukaan alat makan.

3) Aldehid

Mekanisme kerja aldehid adalah dengan mendenaturasi protein dan memecah ikatan hidrogen. Aldehid efektif untuk sel vegetatif bakteri tetapi tidak dapat menghancurkan spora. Golongan aldehid yang sering digunakan adalah formaldehid dalam bentuk formalin. Formalin sering digunakan sebagai pengawet spesimen biologi, inaktivasi bakteri dan virus dalam vaksin. Formalin dapat mengakibatkan iritasi pada mata, kulit dan hidung serta menyebabkan gangguan pernafasan.

4) Iodin

Iodin memiliki mekanisme membunuh bakteri dengan menginaktivasi enzim dan protein. Iodin efektif terhadap bakteri dan spora. Iodin dapat diinaktivasi oleh bahan organik dan dapat mengkorosi logam. Iodin tidak merusak dan mengiritasi kulit, sehingga digunakan untuk preparasi tangan sebelum melakukan operasi di rumah sakit.

G. Pengendalian Bakteri Menggunakan Antibiotik

Pengendalian bakteri juga dapat menggunakan antibiotik. Antibiotik merupakan hasil metabolisme sekunder mikroorganisme yang dalam jumlah sedikit dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain.

1) Sifat antibiotik yang ideal

Antibiotik dikatakan ideal apabila memiliki sifat-sifat sebagai berikut:

- a) Memiliki kemampuan merusak mikroorganisme yang spesifik.
- b) Tidak menimbulkan efek samping terhadap inang.
- c) Tidak membunuh flora normal pada tubuh inang.
- d) Memiliki kelarutan yang tinggi.
- e) Antibiotik yang diberikan secara oral tidak dapat dinaktifkan oleh asam lambung dan apabila diberikan melalui suntikan tidak terjadi pengikatan dengan protein darah.
- f) Konsentrasi antibiotik dalam jaringan harus tetap tinggi sehingga mampu membunuh mikroorganisme target.

2) Penggolongan antibiotik

Berdasarkan aktivitasnya, antibiotik dibagi menjadi antibiotik berspektrum luas dan sempit. Antibiotik berspektrum luas merupakan antibiotik yang mampu membunuh mikroorganisme Gram + dan Gram -. Antibiotik ini umumnya digunakan untuk pasien dengan infeksi yang belum teridentifikasi. Sedangkan antibiotik berpektrum sempit hanya efektif melawan satu jenis bakteri.

Penggolongan antibiotik berdasarkan mekanisme kerjanya dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme, diantaranya adalah dengan menghambat sintesis dinding sel (penisilin, basitrasin, sefalosporin, vankomisin, sikloserin dan fosfomisin). Mengganggu permeabilitas dan merusak membran sel (polimiksin, golongan makrolida dan poliena). Mengganggu biosintesis asam nukleat (golongan asam nalidixat dan golongan kuinolon), menghambat sintesis protein (streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin dan gentamisin)

Daftar Pustaka

- Cappuccino, J. G and Natalie, S. (2018). *Manual Laboratorium Mikrobiologi* (12th ed.). EGC.
- Chairlan, M. dan E. L. (2011). *Pedoman Teknik Dasar untuk Laboratorium Kesehatan* (2nd ed.). EGC.
- Damani, N. N. (2004). *Manual of Infection Control Procedures* (2nd ed.). Cambridge University Press.
- Elliot, T., Tony W., H. O. dan M. G. (2013). *Mikrobiologi Kedokteran dan Infeksi* (4th ed.). EGC.
- Harti, A. S. (2015). *Mikrobiologi Kesehatan* (E. Risanto (ed.)). Penerbit Andi.
- Irianto, K. (2013). *Mikrobiologi Medis*. Alfabeta.
- Kuswiyanto. (2015). *Bakteriologi 1: Buku Ajar Analisis Kesehatan* (E. A. Mardella (ed.)). EGC.
- Pollack, R.A., Findlay, L., Mondschein, W., dan Modesto, R. (2016). *Praktik Laboratorium Mikrobiologi* (4th ed.). EGC.
- Radji, M. (2016). *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran* (J. Manurung (ed.)). EGC.
- Retnaningrum, En., Darmasiwi, S., & Siregar, A. R. (2018). *Bahan Ajar Mikrobiologi*. (2nd ed.). Gadjah Mada University Press.
- Tortora, G. J., Berdell, R. F. and Christine, L. C. (2019). *Microbiology an Introduction* (13th ed.). Benjamin Cummings.
- Vandepitte, J., Engbaek, K., Rohner, P., Piot, P., & Heuck, C. (2011). *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologi Klinis* (2nd ed.). EGC.
- Willey, J. M., Linda, M. S., Christopher, J. W. (2021). *Prescott's Principles of Microbiology* (2nd ed.). McGraw-Hill Higher Education.

Tentang Penulis



Maulin Inggraini, M.Si, lahir di Jakarta, tahun 1989. Jenjang Pendidikan S1 ditempuh di Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Kota Purwokerto lulus tahun 2011. Pendidikan S2 Biologi, lulus tahun 2013 di Universitas Jenderal Soedirman. Saat ini aktif mengajar sebagai dosen Bakteriologi, Mikologi dan Virologi di Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis dan Prodi S1 Farmasi STIKes Mitra Keluarga. Buku lain yang sudah diterbitkan adalah Buku Instrumentasi Volumetri, Massa dan Pemanas.

Apabila ada yang ingin didiskusikan, bisa melalui email maulin.inggraini@stikesmitrakeluarga.ac.id.

BAB 10

PEWARNAAN BAKTERI

A. Pendahuluan

Tujuan pewarnaan bakteri adalah untuk memudahkan pengamatan morfologi bakteri dengan menggunakan mikroskop agar ukuran dan bentuk bakteri dapat diketahui. Selain itu dapat juga berfungsi untuk melihat struktur dalam dan struktur luar bakteri seperti dinding sel dan vakuola, sifat fisik dan kimia bakteri yang khas dengan zat pewarna dan meningkatkan kontras mikroorganisme (Pelczar, 2008).

Faktor yang diperlukan dalam pewarnaan bakteri (Kurniati dkk., 2018)

1. Fiksasi

Adapun fungsi fiksasi adalah: (1) globula-globula protein tidak dapat mengkerut; (2) sifat reaktif gugusan karboksilat, sulfuhidril, amino primer menjadi lebih tinggi; (3) afinitas

pewarna bakteri menjadi berubah, (4) autolisis sel dapat dicegah; (5) bakteri dapat dibunuh secara cepat dengan tidak merubah struktur dan bentuknya; (6) bakteri dapat menempel pada gelas benda, (7) sel-sel menjadi lebih kuat (keras). Proses fiksasi yang sering digunakan adalah dengan melewati gelas benda di atas spiritus.

2. Substrat

Setiap pewarna bakteri asam atau pewarna bakteri basa dapat bereaksi dengan bahan tertentu. Oleh karena itu, substrat organik (lipid, protein, asam nukleat, dan karbohidrat) juga mempengaruhi pewarnaan biologis.

3. Intensifikasi Pewarnaan

Menambah jumlah pewarna bakteri atau menambahkan mordan merupakan suatu cara yang dapat dilakukan.

4. Pelunturan pewarna bakteri (*Decolorizer*).

Untuk mendapatkan kontras yang baik pada gambar mikroskopis dilakukan pelunturan pewarna bakteri. Secara umum, sel-sel bakteri yang sulit diwarnai akan lebih sulit untuk dilakukan pelunturan warna, sebaliknya sel bakteri yang mudah untuk diwarnai maka akan mudah dilakukan pelunturan pewarna.

B. Jenis-jenis Pewarnaan

1. Pewarnaan sederhana

Salah satu jenis prosedur pewarnaan yang dapat digunakan adalah pewarnaan sederhana, dimana hanya satu pewarnaan yang dapat digunakan, dan semua jenis bakteri muncul sebagai warna dari pewarnaan itu ketika dilihat di bawah mikroskop (Gambar 1). Beberapa pewarna yang biasa digunakan untuk pewarnaan sederhana adalah kristal violet, safranin, dan *metylen blue*. Pewarnaan sederhana dapat digunakan untuk menentukan morfologi dan susunan spesies bakteri, tetapi tidak dapat memberikan informasi tambahan apapun (Lee, 2021).

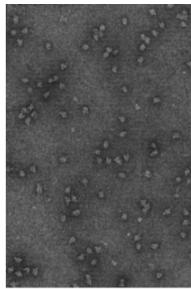


Gambar 1. Pewarnaan Sederhana *Bacillus* Menggunakan Kristal Violet
(Muntasir Alam, University of Dhaka, Department of
Microbiology in 2007)

2. Pewarnaan Negatif

Pewarna negatif adalah pewarna yang menggunakan pewarna asam sebagai pewarna utama, seperti eosin, nigrosin, atau tinta India. Pewarnaan negatif cenderung menggelapkan latar

belakang dan tidak mewarnai sel bakteri. Hal ini dapat terjadi karena zat warna yang digunakan pada pewarnaan negatif adalah zat warna asam dan memiliki komponen kromofor bermuatan negatif yang juga terdapat pada sitoplasma bakteri (Gambar 2). Akibatnya zat warna tidak menembus ke dalam inti sel sel bakteri. Ketika diwarnai negatif, sel bakteri tampak transparan (transparan) (Madigan & Martinko, 2006).



Gambar 2. Monomers of *Escherichia coli* RNA polymerase holoenzyme (Baschong & Aebi, 2006)

3. Pewarnaan Differensial

Pewarnaan yang bertujuan untuk membedakan antara bakteri satu dengan yang lainnya, dimana zat warna yang digunakan untuk pewarnaan menggunakan lebih dari satu macam zat warna (Presscot *et al*, 2002).

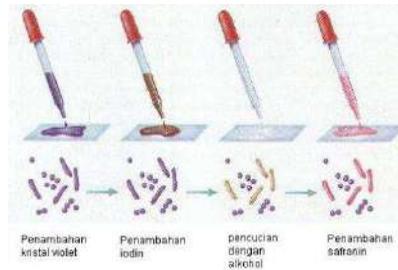
a. Pewarnaan Gram (Gambar 3).

Pewarnaan Gram pertama kali digunakan pada tahun 1884 oleh Hans Christian Gram. Gram sedang mencari metode yang memungkinkan visualisasi cocci di bagian

jaringan paru-paru dari mereka yang telah meninggal radang paru-paru (Smith & Hussey, 2016).

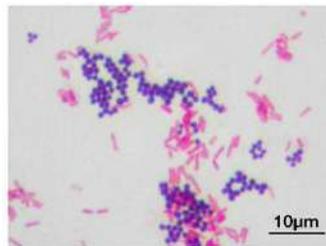
Terdapat 4 jenis reagen pada pewarnaan gram: (1) pewarna utama yaitu kristal violet, (2) Penambahan larutan mordan (iodine) untuk mengintensifkan pewarna bakteri utama, (3) Proses dekolorisasi menggunakan alkohol untuk menghilangkan pewarna utama dari sel, (4) Pemberian pewarna penutup menggunakan safranin. Safranin digunakan untuk mewarnai ulang sel-sel yang kehilangan warna utama setelah pemberian alkohol; pewarna harus kontras dengan warna utama (Bassiri, 2013).

Safranin adalah pewarna yang digunakan pada pewarnaan bakteri yang menyebabkan bakteri berwarna merah pada bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif pada dinding sel bakteri memiliki peptidoglikan yang tipis dan lapisan lemak yang tebal, sehingga ikatan yang terjadi adalah ikatan lemah pada saat berikatan dengan gentian violet, ketika dilunturkan dengan alkohol maka pewarna gentian violet menjadi luntur. Hal ini menyebabkan bakteri akan menyerap warna safranin yaitu merah karena bakteri tidak mampu menyerap pewarna utama (Campbell & Reece, 2012).



Gambar 3. Prosedur Pewarnaan Gram

Pada pewarnaan Gram terdapat 2 jenis bakteri yaitu Gram positif dan Gram negatif. Dalam pewarnaan, bakteri Gram positif berwarna ungu (Gambar 4), sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah (Waluyo, 2008) (Gambar 4). Pewarnaan Gram merupakan salah satu metode paling sederhana dan murah untuk diagnosis cepat infeksi bakteri. Metode ini jauh lebih cepat dibandingkan dengan kultur bakteri (Bulele *et. al.*, 2019).

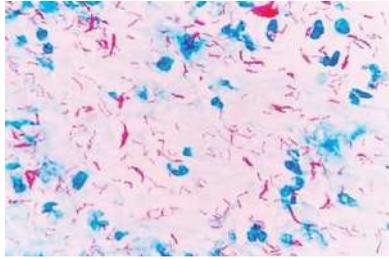


Gambar 4. Bentuk Mikroskopik Bakteri Gram Positif coccus (*Staphylococcus aureus*) dan Bakteri Gram Negatif Basil (*E.Coli*)

b. Pewarna Tahan Asam dengan Ziehl Neelsen

Franz Ziehl ahli bakteriologi dan Friedrich Neelsen ahli patologi pertama kali menemukan pewarnaan *Ziehl-Neelsen*. ZN merupakan pewarna bakteri tahan asam, terutama spesies *Mycobacteria*. Pewarnaan *Ziehl Neelsen* merupakan pewarnaan diferensial, yaitu pewarnaan yang menggunakan lebih dari satu macam zat warna dan mampu membedakan bakteri tahan asam dengan bakteri yang bukan tahan asam (Adriyani, 2016) (Gambar 5).

Untuk mendeteksi awal penyakit TB dapat dilakukan pemeriksaan mikroskopis dengan metode pewarnaan *Ziehl-Neelsen* (ZN). Bakteri Tahan Asam (BTA) pada sputum dapat diperiksa dengan teknik ZN karena mudah, murah, dan mempunyai spesifisitas yang tinggi (Agrawal *et. al.*, 2016). Mikroorganisme tahan asam memerlukan teknik pewarnaan khusus. Pewarnaan tahan asam menggunakan tiga pereaksi yaitu pewarna primer, senyawa pemucat dan pewarna tandingan. Pewarna primer yaitu karbol fuksin yang membuat sel menjadi berwarna merah. Senyawa pemucat yaitu Asam-alkohol (HCl 3% + Etanol 95%) sebelum pemucatan apusan didinginkan terlebih dahulu sehingga zat lilin sel mengeras, sedangkan pewarna tandingan adalah metilen biru (Lee, 2021).



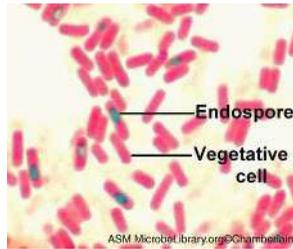
Gambar 5. Teknik *Mycobacterium* Menggunakan Pewarnaan *Ziehl Neelsen* (Merah: bakteri tahan asam, Biru: Bakteri tidak tahan asam)

4. Pewarnaan Spora

Dalam mempertahankan diri dari kondisi yang kurang mendukung untuk kehidupan dari bakteri membentuk spora. Adapun golongan bakteri yang mampu membentuk spora antara lain adalah golongan *Bacillus* sp. dan *Clostridium* sp. (Purwaningsih & Wulandari, 2021). Terdapat 2 metode pewarnaan spora:

a. *Schaeffer Fulton*

Pemanasan diperlukan dalam pewarnaan spora agar zat warna dapat meresap ke dalam spora. Hijau malakit (*malachite green*) merupakan zat warna pertama yang akan mewarnai endospora menjadi hijau dan zat warna kedua akan mewarnai sel vegetatif menjadi merah adalah safranin. Zat warna ini mudah terlepas sewaktu pencucian dengan air karena tidak berikatan erat dengan dinding sel dan sitoplasma. Sebaliknya, spora tetap bewarna hijau sewaktu pencucian dengan air karena air tidak dapat menembus dinding endospora (Lay, 1994) (Gambar 6).



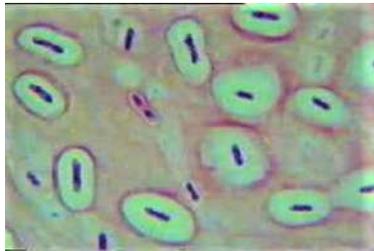
Gambar 6. Pengamatan Preparat Spora Bakteri menggunakan Metode *Schaeffer Fulton*

b. *Klein*

Pewarnaan dilakukan dengan pemanasan sehingga pori-pori dinding spora akan membesar dan zat warna dapat masuk. Suspensi bakteri dibuat dengan cara menambahkan 1,5 ml NaCl 0,9% steril ke dalam tabung agar miring, biakan bakteri kemudian dihomogenkan dengan ose atau di kocok, kemudian dipindahkan suspensi tersebut ke tabung kosong steril. Menambahkan karbol fuchsin (1:1) pada suspensi bakteri dan panaskan dalam water bath pada suhu 80°C selama 10 menit. Preparat atau sediaan dibuat dari suspensi di atas. H₂SO₄ 1% ditetaskan selama 2 detik dan dicuci, kemudian dikeringkan dengan kertas saring. Setelah itu diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100X. Hasil yang didapatkan spora berwarna merah, badan sel bakteri (vegetatif) biru (Presscot, 2002).

5. Pewarnaan Kapsul

Pewarnaan kapsul merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengetahui suatu bakteri apakah memiliki kapsul pada tubuhnya. Lapisan polimer yang terdapat diluar dinding sel disebut kapsul (Hadiutomo, 1990). Bahan kapsul bersifat larut dalam air dan dapat dilepaskan atau dihilangkan dengan pembilasan sehingga pewarnaan kapsul lebih sulit dibandingkan dengan jenis prosedur pewarnaan differensial lainnya. Artefak dapat terbentuk jika Apusan dipanaskan. Hal ini terjadi karena penyusutan sel yang dihasilkan dapat membentuk suatu zona jernih di sekitar organisme dan terlihat seperti kapsul. Kristal violet merupakan pewarna primer dan senyawa pemucat adalah tembaga sulfat. Ciri kuman berkapsul, koloni terlihat berlendir apabila ditanam pada media differential secara makroskopis contohnya *Klebsiella* sp n (Gambar 7).

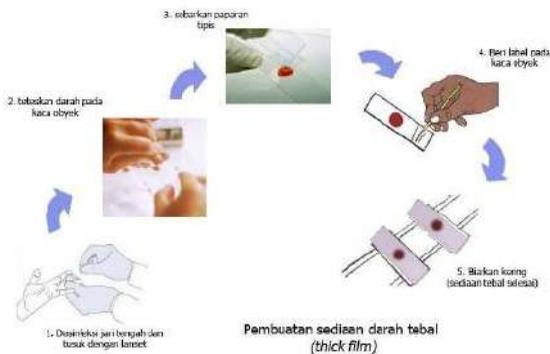


Gambar 7. Pewarnaan Kapsul dengan Metode *Burry Gins*

6. Pewarnaan Khusus

a. **Pewarnaan Polikromatik dengan pewarnaan Giemsa**
(Gambar 8).

Giemsa merupakan pewarna dengan prinsip Romanowsky yang terdiri dari Azure B (produk oksidasi methylen blue) yang memiliki warna biru dan eosin (eosin B atau Y) yang berwarna merah, kombinasi kedua zat warna tersebut bersifat polikromatik sehingga dapat memberikan beberapa warna terhadap sediaan apus darah (Nugraha, 2015). Azure B (*trimetil tionin*) bersifat basa dan mewarnai komponen sel yang bersifat asam, sedangkan eosin Y (tetrabromflurecein) bersifat asam dan mewarnai komponen yang bersifat basa seperti granula eosinophil. Hasil dari ikatan antara eosin Y dengan azur B berwarna ungu (Arianda, 2015). Untuk membedakan inti sel dan morfologi sitoplasma sel darah merah, sel darah putih, trombosit serta parasit darah digunakan pewarna giemsa (Nugraha, 2015).



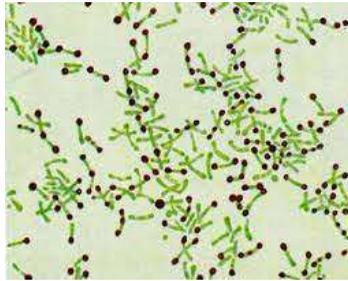
Gambar 8. Prosedur Pewarnaan Giemsa

**b. Pewarnaan Metakromatik dengan pewarnaan
*Albert, Loeffler dan Neisser***

Granula metakromatik tidak hanya ditemukan pada *Corynebacterium diphtheriae* tetapi juga pada beberapa bakteri selain dari *Corynebacterium diphtheriae*, fungi, algae, dan protozoa. Granula metakromatik mengandung polifosfat, asam ribonukleat, dan protein. Granula metakromatik sangat mungkin mempunyai fungsi sebagai sumber cadangan energi (Beishir, 1991).

1) Pewarnaan Albert Versi Beishir (Beishir, 1991)

Buatlah sediaan yang kemudian ditetesi dengan zat warna Albert dan biarkanlah selama 5 menit. Kemudian bersihkan sediaan dari sisa-sisa zat warna (Tidak boleh dicuci dengan air). Larutan Lugol ditetaskan dan biarkanlah selama 1 menit. Sediaan dimiringkan supaya bersih dari sisa-sisa zat warna. Dicuci dengan air yang mengalir dan sediaan dikeringkan (Beishir, 1991). Hasil pengamatan terlihat bintik sangat ungu (intense purple dots) tampak sebagai granula metakromatik. Sitoplasma berwarna hijau pucat (very pale green). Sitoplasma yang berwarna pucat sulit untuk diidentifikasi (Beishir, 1991). Minyak imersi harus digunakan pada waktu memakai mikroskop. Perbesaran yang digunakan adalah 1000 kali (Gambar 9).



Gambar 9. Hasil Mikroskopis Pewarnaan Albert

2) Pewarnaan Biru *Methylen Alkalin Loeffler* Versi *Beishir* Beishir, 1991)

Sediaan dibuat dan ditetesi dengan *Methylen Blue Alkalin Loeffler* dan dibiarkan selama 5 menit. Kemudian dicuci dengan air yang mengalir dan sediaan dikeringkan (Beishir, 1991). Hasil pengamatan terlihat bintik sangat biru (*intense blue*) sebagai granula metakromatik. Sitoplasma berwarna biru pucat (Beishir, 1991).

3) Pewarnaan *Neisser*

Diperlukan 3 macam larutan pada pewarnaan ini, dimana masing-masing disebut: *Neisser A*, *Neisser B* dan *Neisser C*. Pertama, sediaan kuman dibuat pada gelas objek dan dilakukan fiksasi, kemudian tunggu menjadi dingin. Kedua, *Neisser A* dan *B* dituangkan pada sediaan kuman dan dibiarkan selama 1 menit. Ketiga, sisa *Neisser A* dan *B* dibuang dari gelas objek. Keempat, *Neisser C* dituang pada sediaan

dan biarkan selama 1,5 menit. Kelima, sisa *Neisser* C dari gelas objek dibuang. Keenam, dikeringkan dengan kertas pengering. Hasil pengamatan terlihat granula metakromatik tampak berwarna biru gelap atau biru hitam dalam sitoplasma kuman yang tampak berwarna kuning coklat.

Daftar Pustaka

- Adriyani, A. *Gambaran Hasil Perbandingan Pemeriksaan Mikroskopis Basil Taban Asam Dengan Variasi Carbol Fuchsin Dan Methyelen Blue*. (Skripsi, Universitas Muhammadiyah Semarang, 2016).
- Agrawal, M., Bajaj, A., Bhatia, V., Dutt, S. (2016). Comparative Study of GeneXpert with ZN Stain and Culture in Samples of Suspected Pulmonary Tuberculosis. *J Clin Diagn Res J Clin Diagn Res.*, 10(5):9-12.
- Arianda, D. (2015). *Buku Saku Analisis Kesehatan Revisi ke-5*. Bekasi: Analisis Muslim Publishing.
- Baschong, W. & Aebi, U. (2006). Negative Staining. *Cell Biology*. 233-240. doi:10.1016/b978-012164730-8/50151-9.
- Bassiri, E. (2013). *Staining and Bacterial Cell Morphology*. Philadelphia: University of Pennsylvania.
- Beishir, B. (1991). *Microbiology in Practice: A Self-Instructional Laboratory Course*. Edisi V. New York: HarperCollins.
- Bisen, P. S. (2014). *Microbes in Practice*. New Delhi: IK International.
- Bulele, T., Rares, F. E. S., Porotu'o, J. (2019). Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 7(1):30-36.
- Campbell, N. A & Jane B. Reece. 2012. *Biology Edisi 8 Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Hadiutomo, (1990). *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- Kurniati, T. H., Indrayanti, R., Muzajjanah, Y., Rustam, dan Sukmawati, D. (2018). *Penuntun Praktikum Mikrobiologi*. Jakarta: FMIPA Universitas Negeri Jakarta.

- Lay, B.W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lee, A. (2021). *General Microbiology Laboratory*. USA: North Carolina State University.
- Madigan, M. T. & Martinko, J. M. (2006). *Brock: Biology of Microorganism*. USA: Pearson Education International.
- Nugraha, G. (2015). *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Jakarta: CV Trans Info Medika.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S. (2008). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Presscot, L. M., John, P. H., Donald, A. K. (2002). *Microbiology*. New York: Mc Graw Hill Company.
- Purwaningsih, D & Wulandari, D. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Sains Kes.* 3(5): 750-759.
- Smith, A. C. & Hussey, M. A. (2016). *Gram Stains Protocols*. USA: American Society for Microbiology.
- Waluyo, L. (2008). *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.

Tentang Penulis



Seftiwan Pratami Djasfar. lahir di Kota Padang, 30 Agustus 1990. Jenjang Pendidikan S1 ditempuh di Universitas Negeri Padang, Kota Padang, lulus tahun 2012. Pendidikan S2 Mikrobiologi, lulus tahun 2017 di Institut Pertanian Bogor. Saat ini menjabat sebagai Ketua Laboratorium STIKes Kesosi Jakarta Barat. Beberapa buku yang sudah di terbitkan adalah Buku Ajar Mikrobiologi dan Parasitologi. Penulis dapat dihubungi melalui surat elektronik pratamisefti@gmail.com dan nomor WA 081363563123.

BAB 11

UJI BIOKIMIA BAKTERI

A. Uji TSIA (*Triple Sugar-Iron Agar*)

1) Prinsip

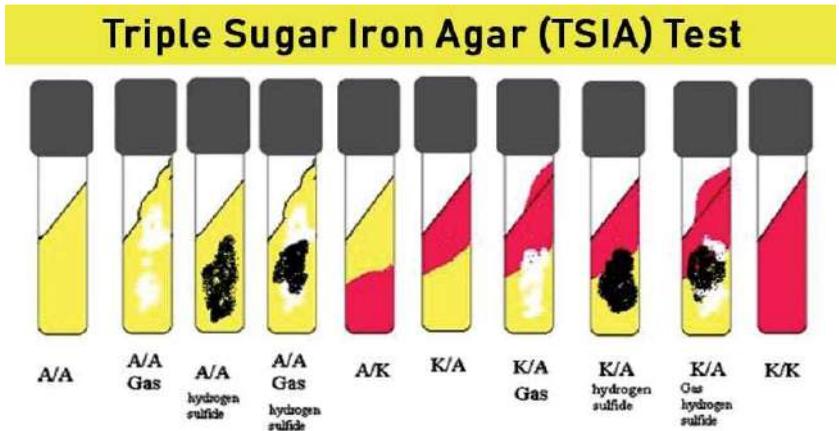
Uji TSIA digunakan untuk membedakan golongan *Enterobacteriaceae* dari basilus gram-negatif intestinal lainnya. Perbedaan tersebut didasarkan pada fermentasi karbohidrat (glukosa dan laktosa atau sukrosa) dan produksi *hydrogen sulfide* (H_2S). Fenol merah merupakan indikator untuk identifikasi kemampuan bakteri dalam melakukan fermentasi karbohidrat. Adanya fermentasi jika terjadi perubahan warna dari merah (basa) menjadi kuning (asam). *Ferric ammonium citrate* merupakan indikator adanya H_2S . H_2S terbentuk dari adanya reaksi antara *sodium tiosulfat* dengan *Ferric ammonium citrate* membentuk endapan hitam di dasar tabung. Produksi gas ditunjukkan dengan adanya gelembung atau pecahnya media agar di dalam tabung.

2) Bahan

- Media TSIA

3) Prosedur

Koloni bakteri diambil dengan menggunakan ose dan diinokulasikan pada media TSIA dengan menusuk melalui bagian tengah media ke bagian bawah tabung. Kemudian diambil dengan menggoreskan zig-zag pada permukaan bidang miring. Selanjutnya tabung tersebut diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dengan mengamati perubahan warna pada media (Abdalla et al., 2018). Adapun interpretasi hasil dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 1. Interpretasi hasil pengujian TSIA (*Triple Sugar-Iron Agar*) (Aryal, 2022)

Tabel 1. Interpretasi Uji TSIA (Hajna, 1945; Lehman, 2005)

No	Warna pada media (<i>Slant/butt</i>)	Simbol	Interpretasi	Bakteri
----	--	--------	--------------	---------

Uji Biokimia Bakteri

1	Kuning/Kuning	A/A	Hanya terjadi fermentasi glukosa dan katabolisis pepton	<i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>K. pneumoniae</i> .
2	Kuning/Kuning terbentuk gelembung udara	A/A Gas	Fermentasi glukosa dan laktosa/sukrosa serta terbentuk gas	<i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>
3	Kuning/Kuning terbentuk warna hitam	A/A H ₂ S	Fermentasi glukosa dan laktosa/sukrosa serta terbentuk H ₂ S	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , dan <i>P. vulgaris</i>
4	Kuning/Kuning terbentuk warna hitam dan gelembung udara	A/A H ₂ S gas	Fermentasi glukosa dan laktosa/sukrosa serta terbentuk H ₂ S dan gas	<i>Citrobacter sp</i> dan <i>Proteus vulgaris</i>
5	Kuning/Merah	A/K	Hanya terjadi fermentasi glukosa	<i>Klebsiella</i>
6	Merah/Kuning	K/A	Hanya terjadi fermentasi	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter koseri</i>

			glukosa dan katabolisis pepton	dan <i>Morganella morganii</i>
7	Merah/Kuning terbentuk gelembung udara	K/A gas	Hanya terjadi fermentasi glukosa dan terbentuk gas	<i>Enterobacter cloacae</i>
8	Merah/Kuning terbentuk warna hitam	K/A H ₂ S	Hanya terjadi fermentasi glukosa dan terbentuk H ₂ S	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Edwardsiella tarda</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , dan <i>Salmonella spp</i>
9	Merah/Kuning terbentuk gelembung udara dan warna hitam	K/A H ₂ S gas	Hanya terjadi fermentasi glukosa dan terbentuk gas dan H ₂ S	<i>Salmonella</i> dan <i>Proteus</i>
10	Merah/Merah	K/K	Tidak terjadi fermentasi dan katabolisme pepton	<i>Acinetobacter spp.</i> dan <i>Pseudomonas spp.</i>

B. Uji *Methyl Red* (MR)

1) Prinsip

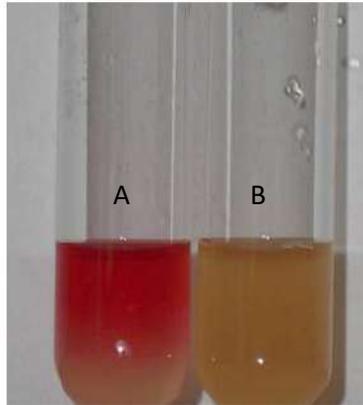
Uji MR digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengasamkan asam dari fermentasi glukosa. Indikator pH metil merah akan mendeteksi asam seperti asam laktat, asam asetat atau asam format. Bakteri akan mengubah glukosa menjadi asam piruvat melalui jalur Embden-Meyerhof yang selanjutnya akan dimetabolisme menjadi asam. Jenis asam yang dihasilkan berbeda dari satu spesies ke spesies lainnya tergantung dari jalur enzimatik yang pada bakteri tersebut. Indikator metil merah pada kisaran pH 4,4 akan berubah menjadi merah yang menandakan uji positif. Sedangkan pada pH 6,0 akan menghasilkan warna kuning yang menandakan uji negatif (Dalynn, 2014; Prakash, 2016).

2) Bahan

- *Indicator methyl red*
- *MR-VP broth*
- Bakteri kontrol (ex; *Escherichia coli* dan *E. aerogenes/ Klebsiella pneumoniae*)

3) Prosedur

Masukan 2,5 ml biakan kedalam tabung steril berisi media MR-VP kemudian menambahkan 5 tetes reagen metil merah kemudian bandingkan organisme uji dengan biakan kontrol. Biakan kontrol yang digunakan untuk MR positif misalnya *Escherichia coli* sedangkan MR negatif misalnya menggunakan *E. aerogenes*. Selanjutnya dilakukan inkubasi 35-37°C selama minimum 48 jam (dapat dilakukan inkubasi sampai 3 hari untuk menyakinkan hasil yang didapatkan). Hasil positif menunjukkan warna merah pada permukaan media sedangkan hasil negatif jika permukaan media berwarna kuning seperti pada gambar berikut :



Gambar 2. Interpretasi hasil uji MR
A. Hasil positif; B. Hasil Negatif (McDivitt, 2009)

C. Uji *Voges Proskauer (VP)*

1) Prinsip

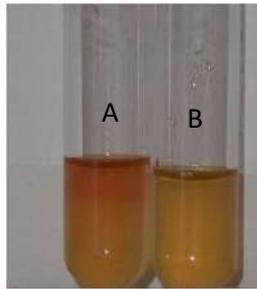
Uji VP digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan kemampuan dalam menghasilkan *acetylmethylcarbinol (acetion)/2,3-butanediol* dari fermentasi glukosa. Bakteri mengfermentasi glukosa melalui jalur butanediol sehingga menghasilkan acetoin (*asetil metil karbinol atau 3-hidrosibutanon*) yang selanjutnya akan direduksi menjadi *2,3-butanediol*.

2) Bahan

- Reagen Barrits A (*a-Naphthol*) dan barrits B 40% (*Potassium Hydroxide*).
- *MR-VP broth*
- Bakteri kontrol (ex; *Escherichia coli* dan *Enterobacter aerogenes*)

3) Prosedur

Masukan 2,5 ml biakan kedalam *media broth MR-VP* kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 35⁰C. Selanjutnya memberikan penambahan 0,6 ml (12 tetes) reagen barritt A (*a-Naphthol*) dan 0,2 ml (4 tetes) reagen *barrits B 40% Potassium Hydroxide*). Homogenkan selama 1 menit. Diamkan selama 30 menit kemudian amati. Adapun interpratasi hasil positif jika terbentuk warna merah muda atau merah pada permukaan media sedangkan hasil negatif jika pada permukaan media berwarna kuning, dapat di lihat pada gambar berikut :



Gambar 3. Interpretasi hasil uji VP; A. Hasil positif; B. Hasil Negatif (McDivitt, 2009)

D. Uji SIM

1) Prinsip

SIM merupakan media kombinasi yang mampu mengidentifikasi karakteristik bakteri berupa reduksi sulfur, indol dan motilitas. Media tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi *enterobacteriaceae* khususnya *salmonella* dan *shigella* berdasarkan kemampuan menghasilkan hydrogen sulfide, indol dan menunjukkan motilitas. Media SIM mengandung *ferric ammonium sitrat*, *kasein pepton* dan *sodium tiosulfat*. *Ferric ammonium citrate* akan bereaksi dengan H_2S yang dihasilkan oleh bakteri membentuk besi sulfida (endapan hitam). Produksi indol terdeteksi pada media karena adanya kasein pepton. Mikroba yang memiliki enzim triptofanase akan mendegradasi triptofan untuk menghasilkan indol, asam piruvat dan ammonia. Asam piruvat dan ammonia akan digunakan mikroba sebagai sumber energi sedangkan indol akan terakumulasi dalam media. Indol dapat dideteksi pada media dengan adanya penambahan reagen *Kovacs*. Indol akan berinteraksi dengan *p*-

dimethylaminobenzaldehyde dalam reagen menghasilkan pita merah pada bagian atas media. Motilitas mikroba dapat terlihat karena adanya penambahan agar sehingga menghasilkan media semi padat yang ideal untuk mendeteksi motilitas mikroba (Cooper, 2019).

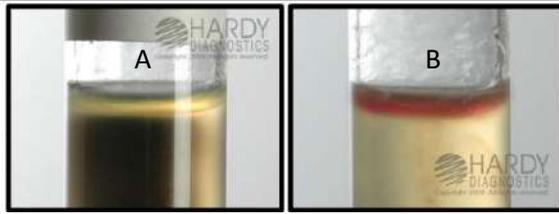
4) **Bahan**

- Media SIM
- Reagen *kovacs*

3) **Prosedur**

Melakukan inokulasi bakteri kedalam media SIM selama 18-24 jam pada suhu 33 – 37⁰C dengan menggunakan metode tusuk (tusuk bagian tengah media hingga 1/3 bagian bawah tabung) selanjutnya melakukan interpretasi hasil sebagai berikut:

- H₂S positif jika terbentuk endapan warna hitam pada media
- Indol Positif jika terdapat endapan merah (cicin merah) diatas permukaan media setelah penambahan reagen kovacs
- Motilitas positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri menjauhi garis tusukan inokulasi sedangkan non-motil hanya tumbuh di sepanjang garis tusukan inokulasi



Gambar 4. Interpretasi hasil uji SIM ; A. Hasil positif H₂S; B. Hasil Positif Indol (Cooper, 2019)

Daftar Pustaka

- Abdallah, M. S., Mustapha, T., Gambo, A., & Ishaq, S. 2018. Biochemical Identification And Cultural Characterization Of Some Gram- Negative Bacteria Obtained From Fecal / Diarrhoeal Biochemical Identification And Cultural Characterization Of Some Gram- Negative Bacteria Obtained From Fecal / Diarrhoeal Samples. *Cibtech Journal Of Microbiology*. 5(1):31–34.
- Aryal,S. 2022. TSIA Test- Principle, Media, Procedure, Results, Uses. <https://Microbenotes.Com/Triple-Sugar-Iron-Agar-Tsia-Test>.
- Cooper,C.R. 2019. Sulfide-Indole-Motility (SIM) Test. *Microbiology Laboratory (BIOL 3702L)*.
- Dalynn B. 2014. Methyl Red Reagent. Catalogue No. RM65.
- Dalynn B. 2014. Voges-Proskauer Reagents (A-Naphthol, 40% Potassium Hydroxide & Creatine). Catalogue No. RA45, RP89, & RC90.
- Hajna, A.A. 1945. Triple Sugar Iron Medium For The Identification Of The Intestinal Group Of Bacteria. *Journal Of Bacteriology*. 49:516-517
- Lehman, D. 2005. Triple Sugar Iron Agar Protocols. *American Society For Microbiology*.
- Mcdevitt, S. 2009. Methyl Red And Voges-Proskauer Test Protocols. *American Society For Microbiology*.
- Prakash.P. And Deepalakshmi K. 2016. Checking The Purity Of Water Samples Collected From A Rural Area And Assuring The Public Safety By Creating Awareness To The People

Living In That Area. International Journal of Advanced Research. 4(9): 278-293

Tentang Penulis



Jumriah Nur., lahir di Buttakeke, Kab. Bulukumba, Sulawesi Selatan 05 Oktober 1990. Jenjang Pendidikan S1 Biologi ditempuh di Universitas Hasanuddin, Kota Makassar lulus tahun 2015. Pendidikan S2 Biologi di Universitas Diponegoro Semarang, lulus tahun 2017. Saat ini menjabat sebagai Wakil Ketua I Bidang Akademik di STIKes Prima Indonesia dan sebagai dosen di Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga. Karya yang saat ini telah di keluarkan adalah jurnal penelitian dan HKI pada bidang mikrobiologi dan biologi lingkungan. Kontak person dapat dihubungi di No. 082111725160/email : jumriahnur91@gmail.com.

BAB 12

UJI SENSITIVITAS BAKTERI

A. Agen Kemoterapi

Agen kemoterapi adalah zat kimia yang digunakan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang sudah terbentuk di jaringan tubuh. Sedangkan istilah antibiotik digunakan secara longgar untuk menggambarkan agen antibakteri yang digunakan untuk mengobati infeksi sistemik. Istilah antibiotik diciptakan dari kata 'antibiosis' yang secara harfiah berarti 'melawan kehidupan'. Di masa lalu, antibiotik dianggap sebagai senyawa organik yang dihasilkan oleh satu mikroorganisme yang bersifat racun bagi mikroorganisme lainnya. Akibatnya, antibiotik pada awalnya, secara luas didefinisikan sebagai zat yang diproduksi oleh satu mikroorganisme atau asal biologis yang pada konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan, atau mematikan mikroorganisme lain. Namun, di zaman modern definisinya telah

dimodifikasi, untuk memasukkan antimikroba yang juga diproduksi sebagian atau seluruhnya melalui cara sintetik. Beberapa jenis Antibiotik dan mekanisme kerjanya dipaparkan dalam tabel 1.

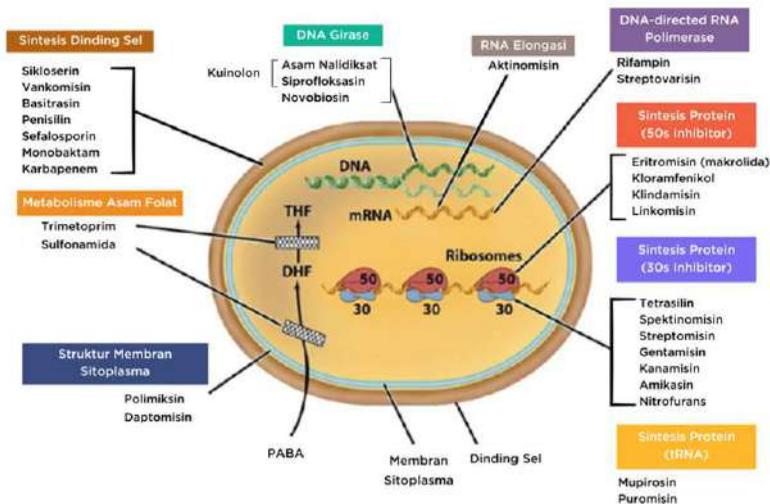
Tabel 1. Antibiotik dan Mekanisme Kerjanya

No	Antibiotik	Mekanisme Kerja
1.	Penisilin	Menghambat transpeptidasi asam N-asetilmuramat sehingga terbentuk struktur peptidoglikan yang lemah.
2.	Kloramfenikol	Memiliki afinitas pada ribosom bakteri sehingga dapat menghambat pembentukan ikatan peptida pada proses sintesis protein bakteri.
3.	Streptomisin	Memiliki afinitas pada ribosom bakteri yang dapat mengganggu sintesis protein bakteri yang disebabkan kesalahan pembacaan kodon pada mRNA.
4.	Tetrasiklin	Memiliki afinitas pada ribosom bakteri yang dapat mencegah ikatan hidrogen antara antikodon pada kompleks tRNA-asam amino dan kodon pada mRNA selama proses sintesis protein bakteri.
5.	Polimiksin dan Daptomysin	Menghancurkan membran sel
6.	Basitrasin	Mencegah sintesis dinding sel
7.	Kuinalon	Mencegah sintesis DNA
8.	Rifampin	Menghambat sintesis RNA

9.	Trimethoprim	Menghambat metabolisme asam folat
----	--------------	-----------------------------------

Antibiotik yang mampu membunuh bakteri disebut bakterisidal, sedangkan yang menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik. Mekanisme kerja agen antibakteri meliputi penghambatan sintesis dinding sel bakteri, penghambatan fungsi membran sitoplasma bakteri, penghambatan sintesis asam nukleat bakteri, penghambatan sintesis protein bakteri, dan penghambatan jalur utama metabolisme.

Pada saat menentukan antibiotik untuk terapi, tenaga medis harus mengetahui mekanisme kerja antibiotik, efek samping dan spektrum aktivitas antimikroba. Dimana setiap antibiotik memiliki mekanisme kerja khusus yang berlainan, dan beberapa antibiotik dapat menimbulkan efek samping sistemik pada inang (Gambar 1).



Gambar 1. Target Kerja Antibiotik. Antibiotik bekerja sesuai target, mekanisme kerjanya yaitu penghambatan sintesis dinding sel, sintesis protein, metabolisme asam folat, dan merusak struktur membran sitoplasma bakteri

Antibiotik memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang beragam. Beberapa antibiotik memiliki spektrum aktivitas yang terbatas, yang hanya efektif terhadap satu kelompok mikroorganisme saja. Sedangkan, yang lain menunjukkan spektrum aktivitas yang luas terhadap beberapa jenis mikroorganisme. Sensitivitas sejumlah besar mikroorganisme patogen terhadap antibiotik telah diketahui, namun masih perlu dilakukan pengujian laboratorium untuk menentukan pilihan terapi yang tepat.

B. Pengujian Sensitivitas Bakteri

Uji sensitivitas bakteri merupakan prosedur laboratorium yang dilakukan oleh Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) untuk mengidentifikasi jenis antimikroba mana yang secara khusus efektif untuk masing-masing pasien. Pada skala yang lebih luas, uji ini dapat membantu mengevaluasi layanan pengobatan yang diberikan oleh rumah sakit, klinik, dan program nasional untuk pengendalian dan pencegahan penyakit menular.

Setelah beberapa dekade penggunaan antibiotik secara luas, bakteri patogen yang berasal dari manusia dan hewan menjadi semakin resisten terhadap banyak agen antimikroba. Saat ini, para peneliti harus menerapkan kegiatan pengawasan berkelanjutan

untuk pola resistensi akibat mutasi pada DNA bakteri. Resistensi antimikroba berkembang melalui sejumlah mekanisme yaitu perubahan permeabilitas pada dinding/membran sel bakteri yang membatasi akses antimikroba ke tempat target, penonaktifan antimikroba di dalam sel, mutasi di sel target, modifikasi enzimatis atau degradasi antimikroba dan akuisisi jalur metabolisme alternatif untuk yang dihambat oleh obat.

Karena munculnya banyak strain bakteri resisten antibiotik, strain bakteri yang diisolasi dari sampel klinis harus dilakukan uji sensitivitas bakteri untuk memberikan informasi bagi klinisi tentang terapi antibiotik yang seharusnya diberikan kepada pasien. Selain itu, ketersediaan informasi dari hasil uji sensitivitas bakteri akan membantu klinisi dalam memilih antibiotik yang paling sesuai untuk pengobatan infeksi bakteri.

Uji sensitivitas bakteri harus dikerjakan dengan metode yang akurat dan teliti, yang hasilnya harus dapat diterapkan langsung pada keadaan klinis. Kriteria utama ketepatan metode uji sensitivitas bakteri adalah hubungannya dengan respon pasien terhadap terapi antibiotik. Prinsip utama uji sensitivitas bakteri adalah mengukur kemampuan zat antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro*. Pada umumnya laboratorium klinik saat melakukan uji sensitivitas bakteri menggunakan metode difusi cakram dan dilusi atau pengenceran yaitu konsentrasi hambat minimum. WHO sendiri merekomendasikan metode modifikasi difusi cakram *Kirby-Bauer*, dengan mempertimbangkan kesederhanaan teknik dan ketelitiannya. Metode difusi cakram *Kirby-Bauer* cocok digunakan untuk bakteri famili Enterobacteriaceae, tetapi metode ini juga dapat digunakan untuk semua patogen yang dapat tumbuh cepat. Metode difusi cakram

Kirby-Bauer telah disesuaikan juga untuk bakteri-bakteri penting secara klinis yang sulit tumbuh, tetapi tidak untuk mikobakteria dan bakteri anaerob obligat.

C. Uji Sensitivitas Bakteri Metode Difusi *Kirby-Bauer*

1) Prinsip:

Metode *Kirby – Bauer* merupakan uji sensitivitas bakteri dengan metode difusi cakram. Suspensi standar bakteri yang akan diuji diinokulasi pada permukaan pelat agar *Mueller Hinton*. Kertas saring cakram yang mengandung konsentrasi antibiotik tertentu ditekan ke permukaan pelat agar *Mueller Hinton* dan diinkubasi pada 35°C semalaman (18-24 jam). Setelah inkubasi, zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar setiap cakram diukur dan ditentukan kerentanannya.

2) Alat:

Inkubator, dispenser cakram atau pinset, pembakar bunsen, pensil penanda alat gelas, dan penggaris millimeter.

3) Bahan:

Larutan standar 0,5 McFarland, plate agar *Mueller Hinton* (pH 7,2- 7,4), air pepton, cakram kertas saring yang diresapi antibiotik dengan konsentrasi yang tepat, dan kapas bertangkai steril.

Persiapkan larutan standar 0,5 *McFarland*: Larutan A adalah dibuat dengan menambahkan barium klorida ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) menjadi 100 mL akuadest. Larutan B disiapkan dengan menambahkan 1 mL asam sulfat (H_2SO_4 (0,36N) ke 100 mL akuadest. Kemudian 0,5 mL larutan A ditambahkan ke 99,5 mL larutan B, diaduk rata dan didistribusikan dalam tabung reaksi dengan tutup ulir. Tutupnya tertutup rapat untuk menghindari penguapan. Campuran disimpan dalam gelap. Larutan dikocok dengan kuat sebelum digunakan.

4) Spesimen:

Persiapan suspensi bakteri: kira-kira, 4-5 koloni yang terisolasi dengan baik dari strain bakteri yang akan diuji diinokulasi ke dalam 5 mL air pepton, dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 3-4 jam. Kekeruhan suspensi disesuaikan dengan cocok dengan standar 0,5 *McFarland*. Jika kepadatan lebih dari itu dapat diencerkan dengan larutan saline steril. Perbandingan dilakukan terhadap latar belakang putih dengan garis hitam kontras atau dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

5) Prosedur:

1. Setelah standarisasi suspensi bakteri, rendam kapas steril di dalamnya dan putar kapas beberapa kali dengan tekanan kuat pada dinding bagian dalam tabung untuk melepaskan kelebihan cairan.
2. Siapkan pelat agar *Mueller Hinton* (MH) (pH 7,2-7,4) dengan ketebalan 4mm.
3. Inokulasi permukaan kering pelat agar MH dengan menggores swab tiga kali di seluruh permukaan agar. digoreskan dalam tiga arah dengan memutar pelat 60° setelah setiap goresan.
4. Tempatkan cakram antibiotik yang sesuai pada permukaan agar-agar dengan menggunakan pinset steril, lalu tekan dengan lembut setiap cakram ke agar-agar. Jangan pindahkan cakram antibiotik setelah menyentuh agar karena beberapa antibiotik segera menyebar.

Atau dengan menggunakan dispenser cakram, letakkan cakram-cakram antibiotik dengan meletakkan dispenser di atas permukaan agar dan menekan pompa dispenser sehingga cakram-cakram dikeluarkan secara bersamaan ke atas permukaan agar. Cakram antibiotik harus ditempatkan sedemikian rupa sehingga setidaknya dengan jarak 20 mm satu sama lainnya.

Catatan: 6 cakram antibiotik dapat dimasukkan ke dalam pelat 85 mm.

- Balikkan pelat dan inkubasi pada suhu 35°C - 37°C selama 16-18 jam.

6) Observasi:

- Periksa plate agar MH untuk mengamati keberadaan dan ukuran zona penghambatan.
- Diameter zona hambat termasuk diameter cakram antibiotik diukur dengan menggunakan skala milimeter.
- Semua pengukuran dilakukan dengan mata telanjang, untuk menghindari pantulan cahaya bagian belakang cawan petri menggunakan latar belakang warna hitam.
- Ukur zona hambat untuk setiap antibiotik, selanjutnya bandingkan dengan Tabel 2 standar *Kirby-Bauer* dan interpretasikan zona hambat sebagai sensitif, intermediet atau resisten.

Tabel 2. Standar *Kirby-Bauer*

Standar Interpretasi Diameter Zona Hambat Untuk Bakteri Selain <i>Hemophilus</i> dan <i>Neisseria Gonorrhoeae</i>				
Senyawa Anti Mikroba	Diameter Zona Hambat, Dibulatkan (Mm)			
	Kandungan Cakram	Resistensi	Intermediet	Sensitif
Ampisilin ^a				
Bila diuji dengan organisme enterik Gram-negatif	10 	≤13	-	≥17
Bila diuji dengan <i>Staphylococcus</i> ^b	10 	≤28	-	≥29

Bila diuji dengan <i>Enterococcus</i> ^c	10 µg	≤16	-	
Bila diuji dengan <i>Nonenterococcal streptococcus</i> ^c	10 µg	≤21	-	≥30
Bila diuji dengan <i>Listeria monocytogenes</i>	10 µg	≤19	-	≥20
Karbenisilin ^b				
Bila diuji dengan <i>Pseudomonas</i>	100 µg	≤13	-	≥17
Bila diuji dengan organisme Gram-negatif lain	100 µg	≤19	-	≥23
Sefoksitin ^d	30 µg	≤14	-	≥18
Sefalotin ^d	30 µg	≤14	-	≥18
Kloramfenikol	30 µg	≤12	13-17	≥18
Klindamisin ^a	2 µg	≤14	15-20	≥21
Eritromisin	15 µg	≤13	14-22	≥23
Gentamisin ^e	10 µg	≤12	13-14	≥15
Kanamisin	30 µg	≤13	14-17	≥18
Metilisin bila diuji dengan <i>Staphylococcus</i> ^f	5 µg	≤9	10-13	≥14
Novobiosin ^g	30 µg	≤17	18-21	≥22
Penisilin G				
Bila diuji dengan <i>Staphylococcus</i> ^b	10 unit	≤28	-	≥29

Bila diuji dengan <i>Enterococcus</i> ^c	10 unit	≤14	-	-
Bila diuji dengan <i>L. monocytogenes</i>	10 unit	≤19	-	≥20
Bila diuji dengan <i>Nonenterococcal streptococcus</i>	10 unit	≤19	-	≥28
Rifampin	5 µg	≤16	17-19	≥20
Streptomisin	10 µg	≤11	12-14	≥15
Tetrasiklin ^h	30 µg	≤14	15-18	≥19
Tobramisin ^c	10 µg	≤12	13-14	≥15
Trimetoprim/sulfametoksazol ⁱ	1,25/23,75 µg	≤10	-	≥16
Vankomisin				
Bila diuji dengan <i>Enterococcus</i>	30 µg	≤9	10-11	-
Bila diuji dengan organisme Gram-positif lain	30 µg	≤9	10-11	≥12
Senyawa anti mikroba khusus saluran kemih ^l				
Sulfonamida ⁱ	250 atau 300 µg	≤12	-	≥17
Trimetoprim ⁱ	5 µg	≤10	-	≥16

^aCakram klindamisin digunakan untuk uji sensitivitas klindamisin dan linkomisin.

^bGalur *S. aureus* resisten menghasilkan β-laktamase dan dianjurkan pengujian menggunakan cakram penisilin G 10 unit. Penisilin G harus

digunakan untuk menguji sensitivitas semua penisilin yang sensitif terhadap penisilinase, seperti ampisilin, amoksisilin, azlosilin, bakampisilin, karbenisilin, hetasilin, mezlosilin, piperasilin, dan tikarsilin. Hasil juga dapat diaplikasikan untuk fenoksimetil penisilin atau fenetisilin.

^cUntuk *enterococcus*, *aerococcus*, dan *nonenterococcal streptococcus*, penyebutan sebagai "setengah sensitif" menunjukkan dibutuhkan penisilin dosis tinggi atau ampisilin untuk endokarditis dan infeksi jaringan invasif yang parah yang kemungkinan memerlukan terapi kombinasi dengan aminoglikosida (gentamisin) untuk meningkatkan respons terapi dan kerja bakterisida. *Nonenterococcal streptococcus* dalam kasus endokarditis harus memiliki konsentrasi hambat minimal yang ditentukan. Isolat urine harus dinyatakan sensitif terhadap ampisilin atau penisilin penggunaan tunggal.

^dAmpisilin/sulbaktam, aztreonam, sefotetan, seftazidim, seftriakson, dan imipenem merupakan senyawa-senyawa β -laktam yang mempunyai cakram diagnostik yang saat ini sedang diteliti dan biasanya memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang lebih luas, terutama terhadap basilus Gram-negatif jika dibandingkan dengan sefalosporin generasi sebelumnya, seperti sefalotin. Hasil uji sefazolin 30 μ g mungkin tidak akurat untuk memperkirakan sensitivitas sefalosporin generasi pertama yang lain. Sefalotin harus diuji untuk mewakili sefalotin, sefaklor (kecuali untuk *Haemophilus*), sefapirin, sefradin, sefaleksin, dan sefadroksil. Galur *S. aureus* yang menunjukkan resistensi terhadap Salah satu penisilin yang resisten penisilinase (penicillinase-resistant penicillin, MRSA) harus dilaporkan sebagai resisten terhadap Sefalosporin dan senyawa β -laktam baru lainnya, seperti amoksisilin/ asam klavulanat, ampisilin/sulbaktam, imipenem, dan tikarsilinfasam klavulanat, bagaimanapun hasil uji *in vitro*. Ini penting sekali karena pada sebagian besar kasus infeksi MRSA yang terdokumentasi, respons pasien terhadap terapi sefalosporin sangat rendah atau data klinis yang meyakinkan rhasih harus ditentukan untuk mengonfirmasi efikasi klinis (kombinasi asam klavulanat atau sulbaktam dan imipenem). *Staphylococcus spp.* koagulasi negatif dan resisten metisilin juga tampak

tidak memberikan respons yang baik terhadap obat-obat yang disebutkan di atas.

^eUkuran daerah hambat yang didapat dari aminoglikosida, khususnya ketika diuji dengan *P. aeruginosa*, sangat bergantung pada media karena variasi yang beragam pada kandungan kation divalen. Standar interpretasi ini hanya dapat digunakan bila pengujian menggunakan media MHA yang menunjukkan hasil pengujian diameter daerah hambat dalam rentang yang benar ketika diujikan dengan *P. aeruginosa* ATCC® 27853. Organisme-organisme pada kategori intermediet mungkin bersifat sensitif/peka atau mungkin juga bersifat resisten bila diuji dengan menggunakan metode pengenceran. Karena itu, lebih tepat jika diklasifikasikan sebagai "sensitivitas tidak menentu".

^fSenyawa anti-staphylococcus yang dapat diuji adalah penisilin resisten β -laktamase, yaitu oksasilin atau metisilin. Hasil uji dapat diterapkan untuk senyawa-senyawa penisilin selain dari kedua obat ini dan juga untuk kloksasilin dan dikloksasilin. Oksasilin lebih dianjurkan karena lebih tahan terhadap degradasi selama penyimpanan, dapat digunakan untuk uji *Pneumococcus*, dan dapat mendeteksi galur-galur *Staphylococcus* yang heteroresisten. Jangan menggunakan nafsilin pada media yang mengandung darah. Cakram kloksasilin sebaiknya tidak digunakan karena tidak dapat mendeteksi *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin. Ketika pengujian dengan staphylococcus menunjukkan hasil intermediet, galur-galur uji harus diselidiki lebih lanjut untuk menentukan apakah galur-galur tersebut heteroresisten.

^gData novobisin tidak berdasarkan standar NCCLS

^hCakram tetrasiklin digunakan untuk semua jenis tetrasiklin. Hasil uji juga dapat diterapkan untuk klortetrasiklin, demeklosiklin, doksisisiklin, metasiklin, minosiklin, dan oksitetrasiklin. Meskipun demikian, organisme-organisme tertentu mungkin lebih sensitif terhadap doksisisiklin dan minosiklin daripada terhadap tetrasiklin.

ⁱCakram sulfisoksazol dapat digunakan untuk semua sulfonamida yang tersedia secara komersial. Media yang mengandung darah, kecuali media yang mengandung darah kuda yang telah terlisiskan, tidak dianjurkan untuk

pengujian sulfonamida. MHA untuk pengujian sulfonamida dan/atau trimetoprim sedapat mungkin harus bebas timidin.

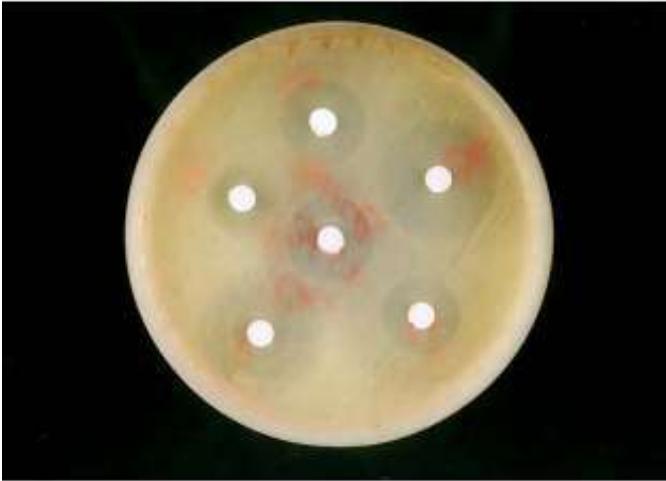
ⁱData sensitivitas/kepekaan untuk sinoksasin, asam nalidiksat, nitrofurantoin, norfloksasin, sulfonamida, dan trimetoprim hanya berlaku untuk organisme-organisme yang diisolasi dari infeksi saluran kemih.

^hKategori "intermediet" harus dilaporkan. Kategori ini biasanya menunjukkan bahwa hasil uji dapat dianggap tidak pasti atau tidak menentu.

7) Interpretasi Hasil:

Setiap antibiotik menghasilkan ukuran zona spesifik (Gambar 2) untuk setiap bakteri uji, tergantung pada ukuran zona hambat, bakteri diklasifikasikan sebagai berikut:

- Sensitif (S)** : Infeksi dapat diobati dengan dosis normal antibiotik.
- Intermediet(I)** : Infeksi dapat merespon terapi dengan lebih \dosis tinggi
- Resisten (R)** : Tidak merespons antibiotik seperti dosis biasanya.



Gambar 2. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri Metode *Kirby Bauer*.

8) Strain Kontrol:

S. aureus ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 29212, dan *P. aeruginosa* ATCC 27853 harus diuji secara berkala.

D. Uji Sensitivitas Bakteri Metode *Stokes*

1) Prinsip:

Metode *Stokes* merupakan uji sensitivitas bakteri metode difusi cakram, serta metode lain yang digunakan untuk pengujian sensitivitas antibiotik rutin strain bakteri. Metode ini memanfaatkan kontrol bawaan terhadap banyak variabel dan karena itu memberikan hasil yang dapat diandalkan. Satu set strain standar digunakan sebagai strain kontrol tergantung pada bakteri yang akan diuji. Strain kontrol adalah *Escherichia coli* NCTC 10414 untuk menguji basil coliform dari saluran kemih. *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10662 melawan aminoglikosida. Dalam tes ini cakram antibiotik diterapkan antara standar dan uji inokulan, sehingga terbentuk zona hambat di sekitar masing-masing cakram terdiri dari bakteri standar dan uji. Difusi dari antibiotik terjadi dan dengan demikian kerentanan bakteri terhadap antibiotik diketahui dengan mengukur ukuran zona hambatan.

2) Alat:

Inkubator, dispenser cakram atau pinset, pembakar bunsen, pensil penanda alat gelas, dan penggaris millimeter.

3) Bahan:

Larutan standar 0,5 *McFarland*, plate agar *Mueller Hinton* (pH 7,2-7,4), air pepton, cakram kertas saring yang diresapi antibiotik dengan konsentrasi yang tepat, dan kapas bertangkai steril.

4) Spesimen:

Persiapan suspensi bakteri: Kira-kira, 4-5 koloni yang diisolasi dengan baik dari strain bakteri yang akan diuji, selanjutnya dipindahkan ke kaldu *Tryptic soy broth* atau kaldu BHI. Kekekutan suspensi disesuaikan agar sesuai dengan standar 0,5 *McFarland*.

5) Prosedur:

1. Agar MH dikeringkan dengan tutup terbuka sehingga ada tidak ada tetesan uap air di permukaan. Tarik garis pada plate agar MH seperti Gambar 3.
2. Kultur kontrol diinokulasi dalam di dua sisi dengan bantuan swab steril (Gambar 3).

3. Organisme uji diinokulasi di bagian tengah tanpa menyentuh kedua sisi.
4. Cakram antibiotik dipasang dengan forcep pada garis di antaranya organisme uji dan kontrol dan ditekan dengan lembut untuk memastikan antibiotik kontak dengan media. Jarak antara dua cakram minimum 2 cm. Empat disk bisa digunakan pada pelat bundar 85 mm.
5. Untuk inokulasi, metode pelapisan berputar juga dapat digunakan dimana regangan kontrol diterapkan pada pinggiran luar dan regangan uji diterapkan di bagian tengah. Enam cakram dapat diletakkan di atas pelat bundar 85 mm.
6. Pelat kemudian diinkubasi semalaman pada suhu 35°C – 37°C.

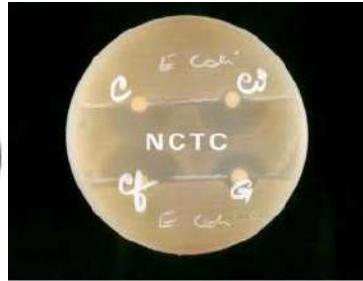
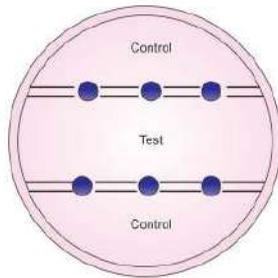
6) Observasi:

Ukuran zona diukur dari tepi cakram ke tepi dari zona. Perbandingan zona hambat antara bakteri standar dan uji menunjukkan sensitivitas uji bakteri. Jika zona uji jelas lebih besar dari kontrol atau tidak memberikan zona hambatan sama sekali, tidak perlu melakukan pengukuran dengan skala milimeter.

7) Interpretasi Hasil:

Setiap ukuran zona ditafsirkan sebagai berikut:

- | | |
|--------------------|--|
| Sensitif | : Ukuran zona hambat sama dengan lebih lebar dari atau tidak lebih dari 3 mm lebih kecil dari kontrol. |
| Intermediet | : Ukuran zona lebih besar dari 2 mm, tetapi lebih kecil dari kontrol lebih dari 3 mm. |
| Resisten | : Ukuran zona 2 mm atau kurang. |



Gambar 3. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri Metode *Stokes*.

8) Strain Kontrol:

S. aureus NCTC 6571, *E. coli* NCTC 10414 dan *P. aeruginosa* NCTC 10662.

E. Uji Sensitivitas Antibiotik Metode Agar Dilusi

1) Prinsip:

Uji sensitivitas bakteri metode dilusi merupakan metode kuantitatif untuk menentukan konsentrasi hambat minimum dari antibiotik terhadap bakteri yang akan diuji. Uji ini berguna dalam pengujian isolat dari infeksi serius seperti endokarditis bakteri atau untuk memverifikasi hasil samar-samar (misalnya kerentanan antara ciprofloxacin terhadap *Salmonella typhi*). Dalam kasus ini, konsentrasi antibiotik terhadap patogen perlu lebih tepat jadi bila ragu tentang sensitivitas patogen tersebut cara untuk penilaian yang tepat adalah untuk menentukan *minimum inhibitory concentration* (MIC)/Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) antibiotik terhadap bakteri uji.

Uji sensitivitas bakteri metode dilusi, pengenceran serial antibiotik disiapkan dalam agar-agar dan dituangkan ke dalam cawan petri. Pengenceran dibuat dalam volume air yang kecil dan ditambahkan ke dalam agar-agar yang telah dicairkan dan didinginkan hingga tidak lebih dari 60°C. Pengenceran agar metode memiliki keuntungan yang memungkinkan untuk menguji jumlah bakteri pada setiap cawan berisi larutan antibiotik.

2) Alat:

Water bath, uji steril tabung, pipet, botol beralas datar bertutup ulir (25 mL) dan cawan petri (diameter 90 mm).

3) Bahan:

Larutan standar 0,5 *McFarland*, agar *Mueller Hinton* steril (pH 7,2-7,4), kaldu *Mueller Hinton* steril, antibiotik serbuk, larutan saline steril (0,85%) dan larutan stok antibiotik.

Persiapan larutan stok antibiotik:

Pengenceran antibiotik dibuat sesuai tabel 3. Mempersiapkan larutan stok yang mengandung antibiotik 2000 µg/mL yang akan

diuji. Misalnya menimbang 200 mg bubuk antibiotik dan larutkan dalam 5 mL air suling/pelarut yang sesuai. Campurkan 0,5 mL larutan ini dengan 9,5 mL akudest (larutan kerja mengandung antibiotik dengan kandungan 200 µg/mL-larutan A).

Tabel 3. Sistem persiapan pengenceran

Larutan Antibiotik	+Akudest steril (vol)	=Konsentrasi intermediaet (µg/mL) dalam tabung reaksi	Konsentrasi akhir 1:10 dalam agar plate (µg/mL)
Volume	µg/mL		
6,4	200-A (Stok)	3,6	1280-B 128
2	1280-B	2	640-C 64
1	1280-B	3	320-D 32
1	1280-B	7	160-E 16
1	160-E	2	80-F 8
1	160-E	3	40-G 4
1	160-E	7	20-H 2
2	20-H	2	10-I 1
1	20-H	3	5-J 0,5
1	20-H	7	2,5-K 0,25

Persiapan suspensi bakteri:

Sekitar 4-5 koloni yang diisolasi dengan baik dari strain bakteri yang akan diuji dipindahkan ke *Tryptic soy broth* atau kaldu BHI. Kekeruhan dari suspensi disesuaikan agar sesuai dengan standar 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

2) Prosedur:

Persiapan pelat agar MH dengan variasi konsentrasi antibiotik:

1. Masukkan 2 mL larutan antibiotik encer ke dalam masing-masing botol tutup sekrup steril yang ditandai.

Catatan: Dianjurkan untuk memulai dengan pengenceran tertinggi satu pipet dapat digunakan untuk mengeluarkan semua pengenceran yang disiapkan.

2. Agar Mueller-Hinton steril didinginkan dan dipertahankan pada suhu $50^{\circ}\text{C} - 55^{\circ}\text{C}$ dalam penangas air (Tabel 3).
3. Tuang media tersebut (18 mL) ke dalam botol bertutup ulir yang mengandung konsentrasi antibiotik yang berbeda, kocok dan tuangkan ke dalam cawan petri steril.

Catatan: Dengan metode ini, volume media yang tepat (22,6 mL) dituangkan ke dalam botol bertutup ulir, pastikan terhindar dari agar cair yang mengental selama transfer ke pengenceran antibiotik (Tabel 3).

4. Simpan plate pada pengaturan suhu 4°C .
5. Setelah plate terpasang, keringkan plate dengan baik di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 30-60 menit. Plate harus kering sebelumnya melakukan tes.

Prosedur Uji:

1. Kotak diberi tanda di bagian bawah pelat yang berisi antibiotik.

Catatan: 20 – 25 galur dapat diuji pada plate termasuk kontrol.

2. Satu ose loop inokulasi dikalibrasi untuk menghasilkan 0,001 – 0,002 mL (1-2 μ L) biakan.
3. Inokulasikan biakan pada permukaan media, ditunjukkan dengan kotak yang ditandai di bawah ini. Dalam setiap kasus 104 bakteri dikirim ke tempat berdiameter 5 - 8 mm.
Catatan: Inokulasi dilakukan dimulai dari cawan yang berisi pengenceran antibiotik tertinggi.
4. Inokulasi plate kontrol tanpa antibiotik secara bersamaan sebagai kontrol.
5. Biarkan tetesan mengering dan inkubasi plate tanpa dibalikkan pada suhu 37°C selama 16 –18 jam.

3) Observasi:

Baca lempeng untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan. Periksalah piring kontrol untuk pertumbuhan. Plate kontrol harus menunjukkan *confulen* atau dekat pertumbuhan *confulen*. Konsentrasi di mana pertumbuhan benar-benar terhambat dianggap sebagai MIC. Organisme dilaporkan sensitif, intermediet atau resisten dengan membandingkan nilai MIC uji dengan yang diberikan di tabel NCCLS.

4) Interpretasi Hasil:

Pengenceran antibiotik tertinggi menunjukkan lebih dari 99% penghambatan pertumbuhan bakteri dianggap sebagai MIC dari bakteri.

5) Strain Kontrol:

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

F. Uji Sensitivitas Antibiotik Dilusi Cair (Gambar 4)

1) Prinsip:

Uji sensitivitas antibiotik dilusi cair dikenal sebagai metode pengenceran tabung, termasuk metode kuantitatif untuk menentukan MIC dari antibiotik terhadap bakteri yang akan diuji. Dalam metode ini, pengenceran serial dari antibiotik diambil dalam tabung reaksi dan suspensi standar bakteri diinokulasi. Setelah diinkubasi semalaman, MIC antibiotik ditentukan dengan mengamati yang terendah konsentrasi antibiotik yang menghambat pertumbuhan bakteri. *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) juga bisa diperkirakan dengan metode ini dengan subkultur dari yang konsentrasi antibiotic terendah yang dapat membunuh bakteri.

Larutan stok agen antimikroba yang akan diuji disiapkan. Pengenceran dua kali lipat dari larutan ini disiapkan dalam kaldu yang sesuai. Suspensi bakteri standar diinokulasikan ke dalam media dengan satu media bebas agen antimikroba sebagai kontrol. Media yang diinokulasi diinokulasi pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam. dan diperiksa pertumbuhannya. MIC diambil sebagai yang terendah konsentrasi agen antimikroba yang benar-benar menghambat pertumbuhan.

2) Alat:

Water bath, tabung reaksi steril. pipet steril ukuran 10 mL, 5 mL, 2 mL dan 1 mL, tabung tertutup steril dan rak tabung reaksi.

3) Bahan:

Larutan standar 0,5 *McFarland*, *Mueller Hinton* cair steril, dan antibiotik bubuk.

Persiapan larutan stok antibiotik:

Pengenceran antibiotik dibuat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$W = (1000 \times V \times C) / P$$

Dimana:

P = Potensi yang diberikan oleh pabrikan

V = Volume (mL) yang dibutuhkan

C = Konsentrasi akhir larutan (per mL)

W = Berat antimikroba yang akan dilarutkan

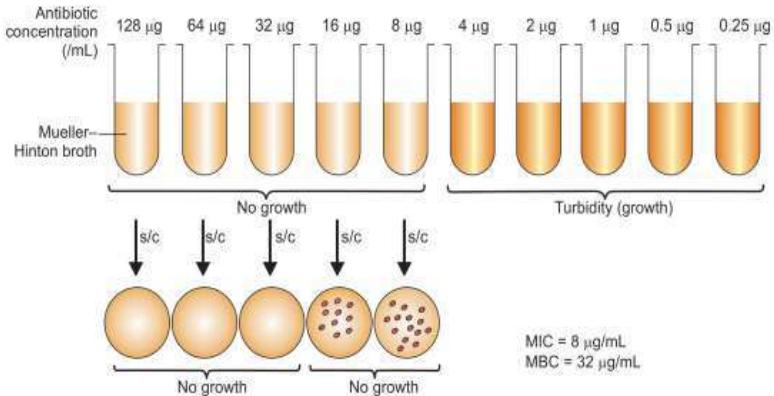
Mempersiapkan larutan stok yang mengandung 2000 µg/mL antibiotik yang akan diuji. Misalnya menimbang 200 mg bubuk antibiotik dilarutkan dalam 5 mL akuadest/pelarut yang sesuai. Campurkan 0,5 mL larutan tersebut dengan 9,5 mL akuadest (larutan stok mengandung antibiotik dengan kandungan 200 µg /mL-larutan A)

4) Prosedur:

1. Pengenceran serial antibiotik dalam *Mueller Hinton* cair steril dan disimpan dalam tabung reaksi.
2. Tabung terakhir dijaga bebas dari antibiotik dan berfungsi sebagai kontrol pertumbuhan.
3. Susun tabung reaksi di rak.
4. Suspensi standar dari mikroorganisme yang akan diuji diinokulasikan ke dalam tabung.
5. Tabung diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18 jam.

5) Observasi:

Pada akhir masa inkubasi, tabung diperiksa kekeruhannya. Kekeruhan menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri belum dihambat oleh konsentrasi antibiotik yang ada dalam medium.



Gambar 4. Uji Sensitivitas Antibiotik metode *Dilution Cair*

6) Interpretasi Hasil:

MIC didefinisikan sebagai pengenceran tertinggi yang menghambat pertumbuhan dinilai dengan kurangnya kekeruhan di dalam tabung. Keuntungan utama dari pengenceran kaldu metode untuk penentuan MIC adalah bahwa hal itu dapat dengan mudah dikonversi untuk menentukan konsentrasi MBC juga. Pengenceran tertinggi menunjukkan setidaknya 99% penghambatan adalah diambil sebagai MBC. Tabung yang tidak menunjukkan pertumbuhan yang terlihat di subkultur media padat dan diinkubasi pada suhu 37°C semalam.

7) Strain Kontrol:

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

G. Uji Sensitivitas Antibiotik Metode *E-test*

1) Prinsip:

E-test merupakan sistem otomatis untuk mengukur MIC isolat Bakteri. Metode ini adalah tes yang sangat sederhana untuk melakukan MIC isolat bakteri dibandingkan dengan teknik lain seperti metode dilusi cair dan agar. Sebuah zona elips penghambatan pertumbuhan terlihat sekitar strip setelah inkubasi. MIC dibaca dari skala di persimpangan zona dengan strip yang sangat mudah untuk menafsirkan hasil MIC. Uji-E didasarkan pada prinsip difusi cakram di mana antibiotik berdifusi ke dalam media ketika strip ditempatkan media.

E-test adalah strip plastik (5 x 50 mm; pembawa antibiotik) dengan gradien berkelanjutan dari antibiotik yang diimobilisasi pada satu sisi dan skala interpretatif MIC sesuai dengan dua kali lipat pengenceran MIC di sisi lain. Antibiotik yang telah ditentukan sebelumnya gradien diimobilisasi pada permukaan yang berlawanan dengan skala MIC. Saat dipindahkan ke agar, gradien antibiotik terus menerus diberdirikan di bawah strip sehingga tetap stabil selama periode tertentu meliputi waktu kritis sebagian besar mikroorganisme yang terkena untuk uji kepekaan.

2) Alat:

Inkubator, dan pinset.

3) Bahan:

Strip *E-test* yang tersedia secara komersial, larutan standar 0,5 *McFarland*, swab steril, larutan saline 0,85% dan agar *Mueller Hinton* steril (150 atau 90 mm dengan kedalaman 4mm). Dalam pelat 90 mm, satu strip antibiotik dapat diuji dalam pelat 150 mm, setidaknya 4 strip antibiotik dapat diuji.

4) Spesimen

Persiapan suspensi bakteri: Inokulasi air pepton dengan bakteri uji dan inkubasi pada suhu 37 °C selama 3-4 jam. Kekeruhan suspensi disesuaikan dengan standar 0,5 *McFarland*.

5) Prosedur:

Membuka paket E-test

1. Keluarkan kemasan yang disimpan pada suhu -20°C atau -70°C.
2. Simpan pada suhu kamar, membutuhkan waktu sekitar 30 menit jika disimpan pada -20° C dan kira-kira satu jam jika disimpan pada -70° C dan pastikan semua uap air telah menguap sebelum dibuka.
3. Periksa kemasan apakah ada lubang atau retakan. Jangan gunakan jika rusak.
4. Potong sepanjang garis putus-putus di bagian atas.
5. Keluarkan strip sedikit dari bukaan dan keluarkan dengan pinset.
6. Jika setrip saling menempel, pelintir dengan jari.
7. Sentuh hanya gagangnya, yaitu area berlabel E.
8. Tempatkan strip yang akan digunakan ke dalam cawan petri yang bersih dan kering.

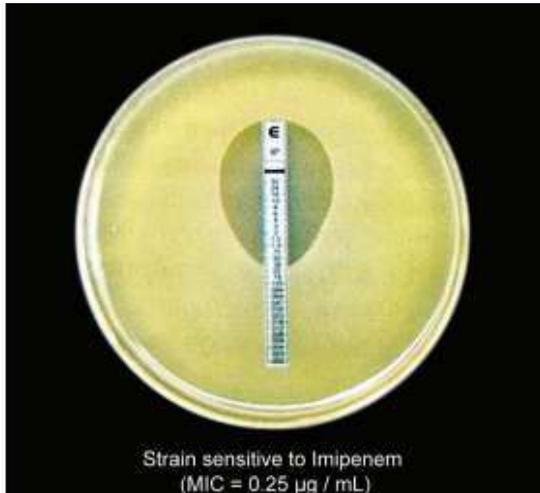
6) Pemeriksaan

1. Gunakan strip *E-test* dengan pinset. Pastikan skala MIC menghadap ke atas yaitu ke arah bukaan plate.
2. Pastikan permukaan agar kering sebelum menginokulasi bakteri dengan swab. Celupkan swab di inokulum, buang kelebihan cairan dan swab seluruh permukaan agar secara merata dalam 3 arah.
3. Biarkan permukaan agar mengering selama 10 menit sampai 15 menit di meja kerja atau di inkubator.

4. Buka paket E-test dan letakkan strip di cawan petri kering.
5. Oleskan strip ke permukaan agar-agar dengan pinset. Selalu menerapkan strip dengan skala MIC menghadap pembukaan plate. Jangan menerapkannya terbalik.
Catatan: Bersikaplah tegas saat mengaplikasikan strip. Setelah diterapkan, jangan memindahkan strip.
6. Gunakan cetakan untuk memposisikan 4 hingga 6 strip pada pelat 150 mm atau satu hingga dua strip pada pelat 90 mm.
7. Tempatkan pegangan strip paling dekat dengan tepi plate.
Catatan: Selalu simpan strip yang tidak digunakan dalam wadah kedap udara di -20°C atau -70°C .
8. Inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

7) Observasi:

Setelah inkubasi zona elips penghambatan pertumbuhan terlihat di sekitar strip. MIC dibaca dari skala di persimpangan zona dengan strip (Gambar 5).



Gambar 5. *E-test*

8) Interpretasi Hasil:

Baca pelat setelah masa inkubasi yang disarankan hanya jika pertumbuhan yang cukup terlihat dan zona penghambatan jelas bisa dilihat. Baca MIC di mana elips memotong skala. Selalu baca titik akhir pada penghambatan lengkap semua pertumbuhan termasuk kabut dan koloni terisolasi. Karena E-test terdiri dari gradien kontinu, nilai MIC di antara pengenceran dua kali lipat dapat diperoleh. Selalu bulatkan nilai ini ke pengenceran dua kali lipat berikutnya sebelum interpretasi. Misalnya: Jika *breakpoint* ampisilin adalah diberikan sebagai S=1, I = 2, R=4 µg/mL, kemudian MIC uji-E sebesar 1,5 µg/mL dibulatkan menjadi 2 µg/mL dan kategorinya dilaporkan sebagai Intermediet (I)

9) Strain Kontrol:

Label kemasan untuk setiap antibiotik akan mencantumkan kinerja dan data reproduibilitas.

Daftar Pustaka

- Bayot ML, Bragg BN. Antimicrobial Susceptibility Testing. Dikases pada 15 Januari 2023 di link <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539714/>.
- Cappucino, J.C. (2013). *Manual Laboratorium Mikrobiologi: Alih Bahasa, Nur Miftaburrahman*. Ed.8 Jakarta: EGC.
- Ebimiewei Etebu, E and Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *IJAMBR*. 4. 90-101
- Kumar, S. (2016). *Essentials of Microbiology*. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publisher.
- McDermott, P.F., Walker, R.D., and White, D.G. (2003). Antimicrobials: Modes of Action and Mechanisms of Resistance. *International Journal of Toxicology*. 22. 135–143.
- Parija, S.C. (2006). *Textbook of Practical Microbiology*. New Delhi: Ahuja Publishers
- Vandepitte, J., Engbaek, K., Rohner, P., Piot, P., and Heock, C.C. (2010). *Prosedur Laboratorium Dasar Untuk Bakteriologi klinis alih bahasa, Lyana Setiawan*. Ed. 2. Jakarta: EGC, 2010.

Tentang Penulis



Doni Setiawan. Lahir di Ciamis, Jawa Barat pada tanggal 28 Maret 1987. Anak Kedua dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Lili dan Ibu Ati. Memulai Pendidikan di SDN 2 Imbanagara Ciamis, melanjutkan Pendidikan di SMPN 2 Ciamis, kemudian melanjutkan ke SMAN 1 Ciamis. Melanjutkan Pendidikan tinggi pada Program Studi D3 Analis Kesehatan di Universitas BTH Tasikmalaya, S1-Kimia di Fakultas MIPA UNJANI dan Sekolah Pasca Sarjana (SPS) pada Program Studi Magister (S-2) Bioteknologi, dengan konsentrasi Bioteknologi Kesehatan, di Universitas Padjadjaran. Saat ini sebagai Dosen Prodi D3 Analis Kesehatan (Teknologi Laboratorium Medis) STIKes Muhammadiyah Ciamis, Jawa Barat. Penulis aktif dalam organisasi profesi Persatuan Ahli Laboratorium Medik Indonesia (PATELKI) di DPC Kabupaten Ciamis sebagai Koordinator Seksi Ilmiah, Penelitian dan Pengembangan IPTEK, serta menjadi Ketua Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medis Indonesia (AIPTLMI) Regional III (DKI Jakarta, Jawa Barat dan Banten) periode 2022-2026. Beberapa buku yang sudah diterbitkan yaitu Buku Ajar Kendali Mutu dan Pengetahuan Dasar Konseling Genetik pada Pasien Thalasemia.

Email: donizsetiawan@gmail.com

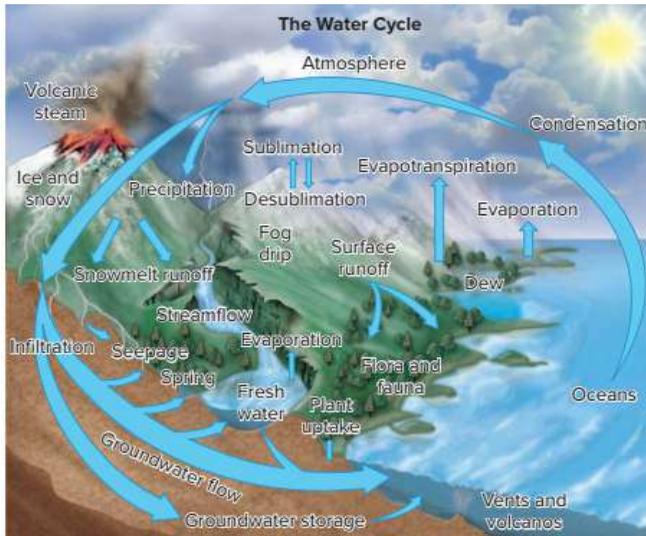
WA: +6282218714206

BAB 13

BAKTERIOLOGI AIR

A. Air

Air merupakan komponen penyusun bumi terbesar. Sebanyak tiga per empat dari permukaan bumi mengandung air. Keberadaan air merupakan hal yang sangat penting bagi kehidupan manusia. Air yang kita pakai sehari-hari dalam kehidupan kita merupakan hasil dari siklus hidrologis yang terjadi secara berkelanjutan (Gambar 1). Siklus hidrologis menghasilkan air pada permukaan bumi seperti danau, sungai dan lautan. Volume air permukaan terbesar ditemukan pada air laut (Talaro & Chess, 2009). Bab ini akan membahas tentang bakteriologi air yaitu penyebaran mikroorganisme pada ekosistem air tawar dan air laut serta teknik untuk mendeteksi cemaran bakteri pada sampel air.



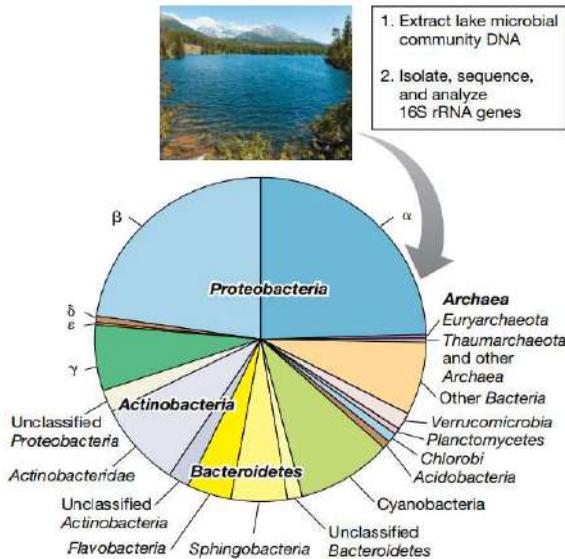
Gambar 1. Siklus Hidrologis (Talaro & Chess, 2009)

B. Bakteri Pada Air

Secara alamiah bakteri dapat ditemukan pada air, baik air tawar dan air laut. Air tawar dan air laut memiliki banyak perbedaan. Beberapa diantaranya kadar garam, suhu rata-rata, kedalaman dan jenis nutrisi. Namun, keduanya merupakan habitat yang baik untuk mikroorganisme (Madigan et al., 2021). Habitat air tawar seperti danau dan sungai berbeda antara yang satu dan lainnya. Danau dan sungai yang letaknya terisolasi dan jauh dari peradaban manusia biasanya masih bersih dan belum tercemar polutan. Sedangkan danau dan sungai yang dekat dengan peradaban manusia biasanya mudah tercemar dari limbah hasil pertanian, industri maupun

limbah rumah tangga (Madigan et al., 2021). Pada air tawar baik organisme yang memproduksi oksigen maupun yang menggunakan oksigen dapat hidup. Mikroorganisme inilah termasuk bakteri yang berkontribusi pada siklus alami oksigen, karbon dan nutrisi lainnya seperti nitrogen, fosfor dan unsur mineral logam (Madigan et al., 2021).

Air laut diketahui memiliki kandungan nutrisi yang lebih rendah dari air tawar. Oleh karenanya sebagian besar mikroorganisme yang ada di laut memiliki sel yang kecil, ciri khas sel yang bertahan hidup pada lingkungan dengan nutrisi yang rendah. Temperatur air laut umumnya lebih dingin dari air tawar dan lebih stabil sesuai dengan musim. Hal ini juga menjadi salah satu sebab rendahnya jumlah total sel mikroorganisme yang ada di lautan sekitar 10^6 /ml dibandingkan dengan 10^7 /ml pada air tawar (Madigan et al., 2021).



Gambar 2. Keragaman bakteri dan arkaea pada air tawar (Talaro & Chess, 2009).

C. Penyakit yang Disebarkan dari Air

Manusia mengkonsumsi air sebanyak dua sampai empat liter per hari. Air yang layak minum seharusnya tidak mengandung mikroorganisme. Ketika air yang kita pakai terkontaminasi oleh limbah baik dari manusia maupun hewan maka air tersebut berpotensi menyebabkan penyakit pada manusia. Pada tahun 1854 seorang dokter berkebangsaan Inggris John Snow menemukan tersebarnya penyakit kolera dari air. Saat itu terjadi wabah kolera yang memakan korban sebanyak 500 orang. John Snow menyimpulkan adanya hubungan antara konsumsi air dari sumur Broad Stree, London. Tahun 1893 Robert Koch berhasil

mengisolasi bakteri patogen penyebab penyakit kolera, *Vibrio cholera*. Penyakit umum bakteri yang sering terjadi sejak dulu adalah kolera dan demam tifoid (tipis) (Bitton, 2014).

Penyakit diare terjadi utamanya karena kontaminasi bakteri pada makanan dan minuman. Penyakit ini telah banyak memakan korban setidaknya sebanyak 3,1 juta orang didunia dimana sebagian besar adalah anak-anak. Diare yang sering terjadi disebabkan karena air tanah dan air permukaan yang tidak dibersihkan terlebih dahulu. Penyakit lainnya karena mengkonsumsi air tanah dan air permukaan terkait dengan saluran pencernaan (Bitton, 2014). Beberapa bakteri patogen yang sering ditemukan pada air sebagai penyebab penyakit pada manusia yaitu: *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, *Campylobacter jejuni*, *Leptospira*, *Legionella* spp., *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* dan *Helicobacter pylori* (Brown & Smith, 2017; Mara & Horan, 2003)

D. Bakteri Patogen

Feses manusia dan hewan mengandung milyaran bakteri sampai dengan sekitar 10^{12} per gram fekes. Sebagian dari bakteri yang berada pada fekes merupakan patogen dan dapat disebarkan oleh air dan media lainnya (Bitton, 2014; Mara & Horan, 2003). Penyakit yang umumnya ditimbulkan karena infeksi bakteri tersebut adalah demam tifoid dan kolera, namun infeksi lainnya juga dapat terjadi. Bakteri patogen yang ditemukan pada air yang terkontamiasi sebagian besar dari kelompok enterobacteriaceae. Beberapa bakteri tersebut adalah sebagai berikut.

1. *Vibrio cholerae*

Vibrio cholera adalah Gram negatif, berbentuk koma dengan satu flagellum polar. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerobik. Bakteri ini

menyebabkan penyakit kolera. Penyakit ini disebabkan karena enterotoksin dari *V. cholera*. Enterotoksin inilah yang menyebabkan diare ringan sampai parah diikuti muntah serta kehilangan cairan tubuh dan mineral. Sebanyak 3 sampai 5 juta orang terinfeksi kolera dan sebanyak 100.000-120.000 kematian per tahunnya sebagian besar di negara Asia (Bitton, 2014).

2. *Salmonella*

Salmonella disebarkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (ayam, susu dan telur). *Salmonella* yang menyebabkan demam tifoid antara lain *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi*. Kedua jenis bakteri tersebut sering menyebabkan penyakit pada manusia dari air yang terkontaminasi. Infeksi *Salmonella* dapat menyebabkan demam, mual dan diare selama tiga sampai 5 hari, jika tidak diobati dengan baik dapat berakibat fatal (Bitton, 2014).

3. *Shigella*

Shigella adalah anggota kelompok *enterobacteriaceae*. *Shigella* dapat menyebabkan penyakit shigellosis. Penyakit ini menginfeksi usus besar, menyebabkan kram, diare, demam dan feses yang dihasilkan mengandung darah. Hal ini disebabkan karena peradangan pada mukosa usus. *Shigella* termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang (Bitton, 2014).

4. *Escherichia coli*

E. coli merupakan flora normal pada usus besar manusia dan beberapa hewan berdarah panas. *E. coli* adalah Gram negatif anaerob fakultatif. Kebanyakan *E. coli* tidak bersifat patogen namun ada *E. coli* yang memiliki sifat patogen dan menyebabkan diare. *E. coli* yang dapat menyebabkan penyakit adalah *enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *enteropathogenic E. coli* (EPEC), *enterohemorrhagic E.*

coli (EHEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), dan *enteroaggregative E. coli* (EAaggEC) (Bitton, 2014).

5. *Yersinia*

Yersinia merupakan genus anggota kelompok *enterobacteriaceae*. *Yersinia enterocolitica* adalah Gram negatif, berbentuk batang yang dapat menyebabkan radang pada saluran pencernaan. Bakteri ini telah diisolasi dari air sungai, air minum dan air selokan. Sebagian besar bakteri yang berhasil diisolasi dari air minum tidak memiliki sifat patogen. Penyebaran diduga melalui pembuangan dari manusia dan hewan (Bitton, 2014; Cornelissen et al., 2013).

6. *Campylobacter*

Beberapa *Campylobacter* yang dapat menyebabkan infeksi antara lain *Campylobacter jejuni* dan *Campylobacter fetus*. Bakteri ini masuk ke dalam kelompok Gram negatif, termotoleran (tidak tumbuh di bawah 30°C). Bakteri ini menginfeksi manusia dan hewan. Hewan yang menjadi reservoir bakteri ini yaitu unggas, burung liar dan hewan ternak. Penyebaran penyakit terjadi dari makanan yang tidak dimasak dengan baik, konsumsi susu mentah dan air minum yang tercemar *Campylobacter* (Bitton, 2014).

E. Deteksi Cemaran Bakteri Pada Air

1. Teknik *Most Probable Number* (MPN)

Air di alam secara alami mengandung banyak mikroorganisme yang tidak berbahaya bagi manusia. Jumlah bakteri yang ditemukan pada air belum tentu menjadi permasalahan. Jenis bakteri yang ditemukanlah yang menjadi salah satu parameter penting dalam mendeteksi patogen pada air. Oleh karenanya diperlukan indikator bakteri tertentu yang menjadi tanda bahwa air sudah tercemar dengan feses dan bakteri dari usus. Pendekatan lainnya yaitu dengan

mendeteksi keberadaan bakteri yang umumnya menyebabkan penyakit pada manusia seperti *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* (Brown & Smith, 2017; Cappuccino & Welsh, 2017).

Uji *Most Probable Number* (MPN) atau yang dikenal dengan uji angka paling mungkin merupakan uji mikrobiologis yang dapat digunakan untuk mendeteksi cemaran pada air. Metode MPN terdiri dari tiga tahapan yaitu uji penduga (*presumptive test*), uji penguat (*confirmed test*) dan uji pelengkap (*completed test*). Hasil dari uji MPN berupa nilai MPN. Nilai ini merupakan perkiraan jumlah *Colony Forming Unit* (CFU) dalam sampel. Nilai MPN secara umum diartikan sebagai perkiraan jumlah bakteri yang tumbuh. Satuan yang umumnya dipakai untuk MPN adalah per 100 mL atau per gram.

Bakteri *coliform* merupakan standar yang digunakan pada deteksi cemaran bakteri pada air. *Escherichia coli* dan *Enterobacter aerogenes* merupakan indikator yang baik pada deteksi cemaran bakteri pada air. *E. coli* (bakteri *coliform*) terdapat pada usus manusia dan beberapa hewan dan tidak selalu ditemukan pada air dan tanah. *E. coli* mudah ditumbuhkan, waktu tumbuh cepat dan tidak memerlukan nutrisi khusus. *E. coli* mudah didiferensiasi menggunakan uji-uji mikrobiologis (Brown & Smith, 2017). Pengujian metode MPN dapat dilakukan dengan menggunakan ulangan tiga dan lima (Tortora et al., 2019). Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk pengujian kualitas mikrobiologis air adalah SNI ISO 9308-1:2010 (SNI LSO 9308-1:2010, 2010). Tahapan uji MPN adalah sebagai berikut:

a) Uji Penduga

Uji penduga dapat menggunakan media *Lactose Broth*, *MacConkey Broth* (MCB) merupakan uji awalan untuk mengetahui

apakah sampel air yang diuji mengandung bakteri yang dapat memfermentasi laktosa dan memproduksi gas. Apabila sampel yang digunakan diduga mengandung bakteri asam laktat maka dapat menggunakan media *Briliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB). Uji penduga juga ingin mengetahui gas yang dihasilkan oleh bakteri yang memfermentasi laktosa, oleh karenanya digunakan tabung durham. Volume inokulasi sampel air ada tiga yaitu sebanyak 10 ml, 1.0 ml dan 0.1 ml. Ulangan yang harus dilakukan sebanyak 5 tabung per volume sampel. Total tabung reaksi yang digunakan sebanyak 15 tabung (Brown & Smith, 2017; Jamil et al., 2022).

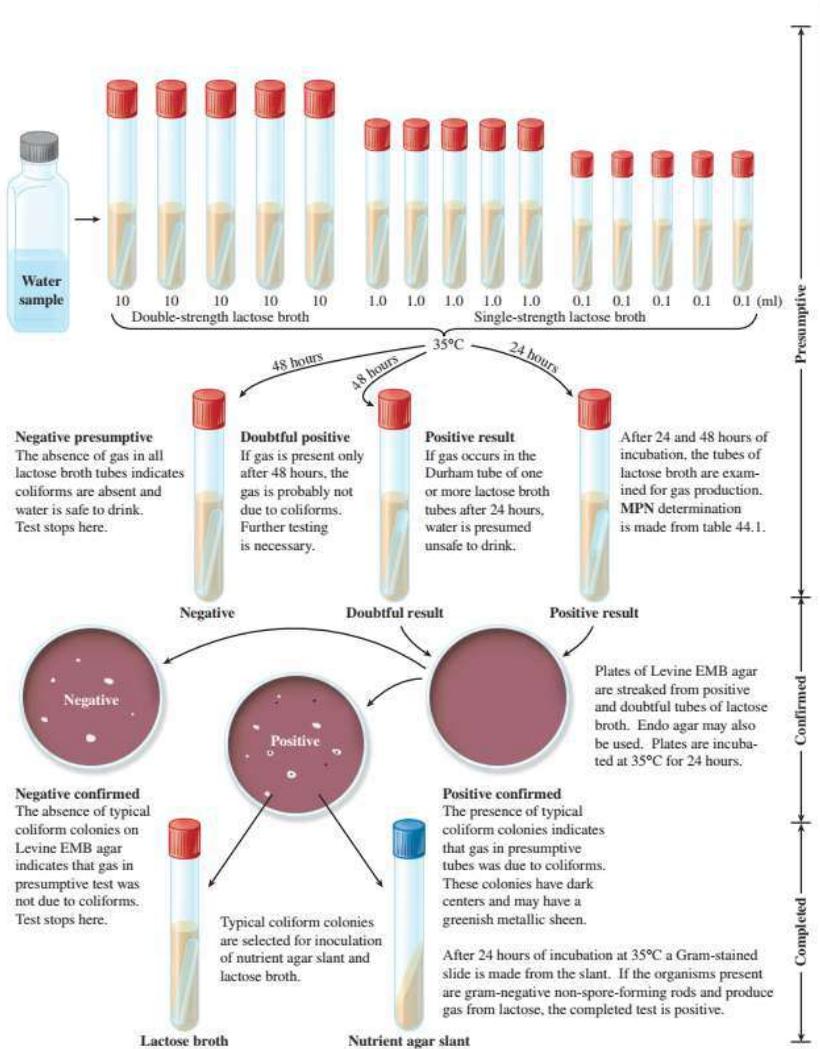
Setelah diinokulasi, inkubasi dilakukan didalam incubator selama 24 jam pada suhu 35°C. (Jamil et al., Mikrobiologi Get Press 2022; Benson). Setelah 24 jam periksa tabung, jika ada gas maka hasil positif, tabung yang belum menunjukkan gas diinkubasi kembali sampai 48 jam. Jika tidak menunjukkan adanya gas maka hasil negatif (Gambar 3).

b) Uji Penguat

Tabung yang menunjukkan hasil positif akan masuk ke tahapan uji berikutnya yaitu uji penguat. Pada uji penguat sebanyak 1 ose dipindahkan dari tabung positif ke dalam tabung baru yang mengandung 10 ml BGLBB 2%. dan tabung durham Kemudian dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Apabila dari setelah 24-48 jam terbentuk gas maka memperkuat bukti adanya bakteri *coliform*. Pada uji penguat kita juga dapat menggunakan *Endo Agar* atau *Levine Eosin Methylene Blue Agar* (EMB) yang diinokulasi dengan hasil positif pada uji penduga. Koloni *E. coli* dan *Enterobacter*

aerogenes akan dapat dibedakan berdasarkan warna hijau metalik pada Levine EMB agar

E. coli akan menunjukkan warna hijau metalik lebih kuat dibandingkan dengan *E. aerogenes* (Brown & Smith, 2017; Jamil et al., 2022). Koloni *coliform* dan sekitarnya akan menunjukkan warna merah pada *Endo agar*. Sedangkan bakteri yang tidak memfermentasi laktosa tidak akan mempengaruhi warna mediana.



Gambar 3 Ilustrasi uji MPN (Brown & Smith, 2017).

c) Uji Pelengkap

Uji pelengkap merupakan uji terakhir yang dilakukan pada teknik MPN. Uji pelengkap bertujuan untuk mengidentifikasi jenis bakteri *coliform* yang ada pada sampel. Uji pelengkap dapat dilakukan dengan beberapa cara. Cara pertama dengan menginokulasikan kembali bakteri yang tumbuh pada uji penguat pada *Endo agar*. Jika koloni yang tumbuh menunjukkan warna hijau metalik pada koloni dan sekitarnya menunjukkan warna merah maka hasil positif. Cara lainnya yaitu dengan menginokulasikan koloni yang tumbuh pada uji penguat ke media *Nutrient Agar* (NA) agar miring dan media *Lactose Broth* dengan tabung Durham. Amati pertumbuhan bakteri pada tabung *Lactose Broth* jika terdapat gas maka hasil positif. Lakukan perwatanan Gram pada koloni yang tumbuh pada agar miring NA. Jika hasil Gram negatif maka terkonfirmasi bahwa terdapat koliform pada sampel yang diujikan (Brown & Smith, 2017; Jamil et al., 2022).

2. Teknik *Membrane Filter*

Teknik MPN membutuhkan waktu yang relatif lama dan teknik yang digunakan pun membutuhkan kecakapan personil lab dalam melakukannya. Teknik lainnya yang dapat digunakan untuk mengetahui keberadaan cemaran pada air adalah teknik *membrane filter* (Saringan membran). Teknik ini menggunakan filter dengan diameter pori 0.45 μm . Air yang akan diuji dilalukan melewati filter (Gambar 4). Sebagian besar bakteri termasuk bakteri *coliform* berukuran lebih besar dari pori. Bakteri akan tertahan pada filter. Filter tersebut kemudian ditanam pada media dengan *absorbent pad*

tersaturasi *Endo Broth*. Cawan diinkubasi pada suhu 35°C selama 22-24 jam. Keberadaan *coliform* pada filter akan Nampak pada produksi asam pada *Endo Broth*. *Coliform* akan memfermentasi laktosa pada *Endo Broth*, proses ini akan mengubah warna fuchsin yang ada pada media sehingga koloni akan tampak hijau metalik. Bakteri non *coliform* tidak akan memiliki warna koloni hijau metalik. Bakteri Gram positif tidak akan tumbuh. Pertumbuhan Gram positif akan dihambat oleh *bile salts* dan *sodium lauryl sulfate* (Brown & Smith, 2017).



Gambar 4 Ilustrasi Teknik *Membrane Filter* (Brown & Smith, 2017)

Daftar Pustaka

- Bitton, G. (2014). *Microbiology of Drinking Water: Production and Distribution* (First). John Wiley & Sons, Inc.
- Brown, A. E., & Smith, H. R. (2017). *Benson's Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology*.
- Cappuccino, J. G., & Welsh, C. (2017). *Microbiology, A Laboratory Manual*. In *Pearson Education Limited*.
- Cornelissen, C. N., Fisher, B. D., & Harvey, R. A. (2013). *Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology Third Edition* (S. Rhyner (ed.); 3rd ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Hidayah, H., Lidia, I., Mursal, P., Susaningsih, H. A., & Amal, S. (2022). Analisis Cemaran Bakteri Coliform dan Identifikasi *Escherichia coli* pada Es Batu Balok di Kota Karawang. *Pharma Xplore – Jurnal Sains Dan Ilmu Farmasi*, 7(1), 54–68.
- Jamil, S. N. A., Wijaya, A., Sendra, E., Rahman, Indas Wari Chairiyah, R., Ulimaz, A., Wahyuni, T. P., Abna, I. M., Amelia Ifadah, R., & Lindawati. (2022). *Mikrobiologi* (N. Sulung (ed.)). Get Press.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. S., Sattely, W. M., & Stahl, D. A. (2021). *Brock Biology of Microorganisms*. In *Sixteenth Edition* (Global Ed). Pearson.
- Mara, D., & Horan, N. (2003). *The Handbook of Water and Wastewater Microbiology* (D. Mara & N. Horan (eds.)). <https://doi.org/10.1016/B978-012470100-7/50029-7>
- SNI ISO 9308-1:2010, (2010). <http://sispk.bsn.go.id/SNI/DaftarList>
- Talaro, K. P., & Chess, B. (2009). *Foundation in Microbiology* (L.

Breithaup (ed.); 10th ed.). McGraw Hill Education.

Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2019). *Microbiology an Introduction* (13th ed.). Pearson Education.
<https://doi.org/LCCN 2017044147>

Tentang Penulis



Dian Rachma Wijayanti adalah seorang dosen pada Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Binawan University, Jakarta Timur. Pada tahun 2007 penulis menyelesaikan pendidikan S1 Biologi di Institut Pertanian Bogor. Penulis melanjutkan studi S2 Mikrobiologi di King Saud University dan lulus pada tahun 2010. Penulis gemar mengajar, membaca dan menulis. Selain mengajar dan menulis buku penulis juga aktif sebagai dewan redaksi pada beberapa jurnal nasional. Penulis masih aktif mengajar dan melakukan penelitian pada bidang Biologi, Mikrobiologi, Biologi molekuler, Bioinformatika, Kesehatan dan Teknologi Laboratorium Medis. Beberapa buku yang sudah diterbitkan oleh penulis antara lain Buku Ajar Biologi Molekuler dan Buku Ajar Metode Penelitian. Penulis dapat dihubungi di email: drwijayanti22@gmail.com.

BAB 14

BAKTERIOLOGI MAKANAN DAN MINUMAN

A. Pendahuluan

Hampir semua makanan dan minuman mengandung satu atau lebih mikroorganisme, Ada yang berperan dalam produksi makanan dan minuman yang difermentasi namun ada juga yang menyebabkan pembusukan makanan dan penyakit bawaan makanan. Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme yang paling banyak berhubungan dengan makanan. Ada bakteri yang kita konsumsi setiap hari bersama makanan kita yang berperan dalam mempertahankan homeostasis internal. Ada juga bakteri berbahaya yang memasuki sistem manusia melalui kontaminasi silang atau konsumsi makanan busuk dapat mengakibatkan produksi enterotoksin dan asam toksin. Bakteri patogen juga dapat menyebabkan penyakit bawaan makanan. Pengetahuan tentang peran bakteri dalam makanan dapat membantu meningkatkn

kesehatan sekaligus melindungi manusia dari bakteri patogen (Húngaro et al., 2014), (Ray & Bhunia, 2013).

a. Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Bakteri pada Makanan dan Minuman

Perkembangan bakteri dalam makanan tidak hanya bergantung pada karakteristik fisik dan gizi makanan, tetapi juga pada serangkaian faktor ekstrinsik dan intrinsik makanan serta interaksinya. Faktor-faktor seperti suhu, pH dan aktivitas air, dapat dianggap sebagai faktor terpenting yang mendorong perkembangan bakteri dalam makanan. Industri makanan memanfaatkan fakta bahwa faktor-faktor ini dapat dengan mudah dimanipulasi untuk mencegah kontaminasi dan pertumbuhan bakteri dalam makanan. Suhu merupakan factor yang sangat mempengaruhi perkembangan bakteri pada makanan. Penyimpanan pada suhu rendah adalah salah satu cara terpenting untuk memperlambat aktivitas metabolisme bakteri dalam makanan. Setiap kelompok bakteri memiliki pH optimum, minimum, dan maksimum untuk pertumbuhannya dalam makanan. Bakteri cenderung sensitive terhadap pH terlebih bakteri pembusuk dari kelompok bakteri asam laktat. pH dapat berinteraksi dengan parameter seperti garam, suhu, potensial redoks, dan bahan pengawet untuk menghambat pertumbuhan patogen dan bakteri lain. Aktivitas air memiliki efek yang signifikan pada pertumbuhan bakteri. Aktivitas air berhubungan dengan jumlah air yang tersedia untuk reaksi metabolisme di dalam sel. Sebagian besar bakteri yang terkait dengan pembusukan makanan tumbuh pada aktivitas di atas 0,91. Selain suhu, pH, dan aktivitas air, faktor lain yang juga penting seperti potensial redoks, sistem pengemasan, struktur makanan, kelembaban relatif, dan komposisi atmosfer (Húngaro et al., 2014), (Preetha & Narayanan, 2020).

b. Kelompok Bakteri Penting pada Makanan dan Minuman

Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme yang paling banyak berhubungan dengan makanan, namun ada sejumlah kelompok bakteri sangat penting terkait dengan aktivitasnya pada makanan seperti yang tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelompok Bakteri Penting pada Makanan dan Minuman (Ray & Bhunia, 2013)

No	Deskripsi Kelompok	Famili	Genus
1	Gram negatif, aerobik/mikroaerofilik, motil, heliks/vibrioid	Tidak diindikasikan	<i>Campylobacter</i> , <i>Arcobacter</i> , <i>Helicobacter</i>
2	Gram negatif, aerobik, batang dan kokus	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i> , <i>Xanthomonas</i>
		Acetobacteraceae	<i>Acetobacter</i> , <i>Gluconobacter</i>
		Nisseriaceae	<i>Acinetobacter</i> , <i>Morexella</i>
		Tidak diindikasikan	<i>Alteromonas</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Brucella</i> , <i>Psychrobacter</i>
3	Rickettsia	Rickettsiaceae	<i>Coxiella</i>
4	Gram positif, kokus	Micrococcaceae	<i>Micrococcus</i> , <i>Staphylococcus</i>
		Tidak diindikasikan	<i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Sarcina</i>
5	Gram positif, batang dan kokus pembentuk endospora	Tidak diindikasikan	<i>Bacillus</i> , <i>Sporolactobacillus</i> , <i>Clostridium</i> , (<i>Desulfotomaculum</i>)
6	Gram positif, tidak berspora, Batang beraturan	Tidak diindikasikan	<i>Lactobacillus</i> , <i>Carnobacterium</i> , <i>Brochothrix</i> , <i>Listeria</i>

7	Gram positif, tidak berspora, batang tidak beraturan	Tidak diindikasikan	<i>Corynebacterium</i> , <i>Brevibacterium</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Bifidobacterium</i>
---	--	---------------------	---

B. Pemanfaatan Bakteri dalam Makanan dan Minuman

a. Bakteri pada Fermentasi Makanan dan Minuman

Fermentasi adalah proses yang membantu memecah molekul organik besar melalui aksi mikroorganisme menjadi molekul yang lebih sederhana. Fermentasi merupakan cara alami untuk meningkatkan vitamin, asam amino esensial, protein, antioksidan serta tekstur, rasa dan aroma makanan. Proses fermentasi juga membantu dalam mengurangi tingkat anti-nutrisi dan tingkat racun yang terdapat dalam makanan dan minuman. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikrobiota yang dominan, yang dianggap sebagai bagian paling berkontribusi terhadap efek menguntungkan pada makanan/minuman fermentasi. Bakteri fermentasi terutama melibatkan BAL seperti *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, dan *Pediococcus* (R. Sharma et al., 2020). Selama fermentasi, BAL mensintesis vitamin dan mineral, menghasilkan peptida yang aktif secara biologis dengan enzim seperti proteinase dan peptidase, dan menghilangkan beberapa anti nutrien. Fermentasi oleh bakteri juga menghasilkan senyawa yang dikenal sebagai peptida aktif biologis yang juga terkenal akan manfaat kesehatannya.

Diantara peptida ini, asam linoleat terkonjugasi (ALK) memiliki efek menurunkan tekanan darah, eksopolisakarida menunjukkan sifat prebiotik, bakteriosin menunjukkan efek anti-mikroba, sphingolipid memiliki sifat anti-karsinogenik dan anti-mikroba, dan peptida bioaktif menunjukkan anti-oksidan, anti- mikroba, antagonis opioid, anti-alergi, dan efek penurun tekanan darah

(Şanlıer et al., 2019). Contoh produk-produk hasil fermentasi oleh bakteri seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Makanan dan Minuman Fermentasi dan Bakteri yang Berperan (Ray & Bhunia, 2013)

Makanan/Minuman Fermentasi	Substrat	Bakteri
Produk susu (Curd, Yogurt, Keju, Yakult, Kefir)	Susu dan kasein susu	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. cremoris</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. thermophilus</i> , <i>L. kefir</i> , <i>L. caucasicus</i> , <i>Acetobacter lovaniensis</i> ,
Produk Sayuran (Kimchi, Natto, Miso, Sauerkraut)	Kedelai, kol, jahe, mentimun, brokoli, lobak	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>L. sakei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Thermotoga sp.</i> , <i>L. hokkaidonensis</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Leuconostoc carnosum</i> , <i>Bifidobacterium dentium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Weissella confusa</i>
Minuman (Anggur, Bir, Kombucha, Sake)	Anggur, beras, sereal	<i>Acetobacter pasteurianus</i> , <i>Gluconacetobacter</i> , <i>Acetobacter xylinus</i> , <i>Komagataeibacter xylinus</i>

b. Probiotik

Probiotik adalah suplemen makanan mikroba yang ketika dalam jumlah yang cukup, secara positif mempengaruhi kesehatan kita terutama dengan meningkatkan komposisi mikrobiota usus. Ada sejumlah besar probiotik yang saat ini digunakan dan tersedia dalam makanan fermentasi susu, terutama dalam yogurt. Beberapa strain *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Lactococcus* dan *Saccharomyces* yang dipilih telah dipromosikan dalam produk makanan karena reputasi manfaat kesehatannya. Probiotik, terutama *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* telah dilaporkan

terkait dengan pengentasan intoleransi laktosa, pencegahan dan penyembuhan diare akibat virus, bakteri dan antibiotik atau radioterai, imunomodulasi, antimutagenik dan efek antikarsinogeni; dan bahkan penurunan kolesterol darah (S. Sharma et al., 2012).

Probiotik memiliki beberapa mekanisme dalam mencegah infeksi mikroba patogen. Bakteri probiotik secara menguntungkan mempengaruhi individu dengan meningkatkan sifat mikroflora asli dan keseimbangan mikointestinalnya. Bakteri probiotik memperkuat pertahanan tubuh dengan cara bersaing dengan bakteri patogen untuk situs perlekatan vili dan nutrisi. Bakteri asam laktat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen dengan memproduksi asam lemak rantai pendek seperti asetat, propionat, butirat serta asam laktat dan format yang menurunkan pH usus. Probiotik juga dilaporkan memproduksi produk sampingan metaboliknya seperti asam, hidrogen peroksida, bakteriosin, seperti lactocidin, dan acidophilin yang memanifestasikan sifat antibiotik dan menghambat pertumbuhan spektrum patogen yang luas danvatau patogen potensial seperti *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Serratia* dan *Bacteroides* (Thantsha et al., 2012).

C. Bakteri Pembusuk Makanan dan Minuman

a. Bakteri Pembusuk

Pembusukan makanan merupakan masalah utama dalam industri makanan. Saat ini berton-ton makanan rusak karena mikroorganisme. Mikroorganisme ini pada awalnya bukan merupakan bagian dari makanan tetapi berasal dari berbagai sumber seperti air, tanah, manusia, mesin dan kemasan makanan. Selama pembusukan, nutrisi makanan terutama karbohidrat, protein, lipid dan zat nitrogen non-protein lainnya terdegradasi

oleh aktivitas katalitik dari berbagai enzim yang dihasilkan oleh bahan makanan itu sendiri atau mikroorganisme. Aktivitas enzim ini akan menghasilkan perubahan warna, tekstur, rasa dan aroma (Das et al., 2014). Bakteri memainkan peran utama dalam pembusukan makanan membuat makanan tidak layak untuk dikonsumsi manusia. Bakteri pembusuk (Tabel 3) biasanya tidak menyebabkan "keracunan makanan".

Bakteri yang menyebabkan penyakit bawaan makanan umumnya tidak berbau dan tidak berasa, dan sebaliknya tidak terdeteksi di luar laboratorium. Konsumsi makanan basi tidak bisa dianggap aman. Beberapa mikroorganisme patogen, misalnya *Clostridium perfringens* dan *Bacillus cereus*, mampu menyebabkan pembusukan. Namun, ada kasus di mana makanan terbukti mengandung bahan beracun (Maru, 2022).

Tabel 3. Bakteri Pembusuk Makanan (Gram et al., 2002)

Produk makanan/minuman	Bakteri pembusuk
Ikan dan produk olahannya	<i>Shewanella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Photobacterium</i> , <i>BAL</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Photobacterium</i>
Daging dan produk olahannya	<i>Pseudomonas</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Brocothrix</i> , <i>clostridia</i> ,
Susu dan produk olahannya	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i>
Telur	<i>Pseudomonas</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>
Sayuran mentah	<i>Pseudomonas</i>
Beer	<i>BAL</i>

b. Pencegahan Pembusukan Makanan dan Minuman

Banyak produk makanan yang mudah rusak secara alami dan memerlukan perlindungan dari pembusukan selama penyiapan, penyimpanan dan distribusi untuk memberikan umur simpan yang diinginkan. Karena produk makanan sekarang sering dijual di wilayah dunia yang jauh dari lokasi produksinya, kebutuhan akan masa simpan yang aman untuk produk ini juga telah meluas. Perkembangan proses pengawetan makanan didorong oleh kebutuhan untuk memperpanjang umur simpan makanan (Sahu & Bala, 2017). Beberapa metode pencegahan pembusukan makanan dan minuman yaitu sebagai berikut (Sherawat et al., 2021), (Kumar, 2019):

(1) Metode Tradisional

- Pengalengan : Metode ini menggunakan wadah kedap udara ini (plastik, gelas, dan logam tahan karat) digunakan. Kemudian setelah wadah ditutup kedap udara untuk mencegah makanan dari kontaminasi,
- Pengeringan : Pengeringan adalah proses dehidrasi dimana air/kelembaban yang ada dalam produk berkurang. Karena kelembapan adalah salah satu alasan mikroba tumbuh dalam produk makanan.
- Pengaraman : Pengaraman adalah penambahan garam ke dalam makanan untuk pengawetan. Pertumbuhan mikroba dihambat oleh garam, karena berpengaruh pada air yang ditarik keluar dari sel bakteri, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel.

- Pemberian gula : Sugaring adalah proses di mana gula digunakan untuk pengawetan makanan. Cara kerja dasarnya adalah kandungan gula yang tinggi membuat bahan makanan menjadi hipertonik dan mikroba tidak bertahan dalam larutan hipertonik karena larutan hipertonik akan menarik air dari mikroba dan akan mengalami dehidrasi.
- Pengasapan : pengawetan makanan dilakukan dengan mengeringkan permukaan makanan karena menghilangkan kelembapan yang ada di permukaan. Namun saat ini metode ini tidak dianggap sebagai metode pengawetan yang berharga, tidak seperti metode penggaraman atau pengeringan.
- Fermentasi : Beberapa produk makanan diawetkan dengan proses fermentasi seperti cuka, produk susu, minuman bir, anggur dan acar juga diawetkan dengan fermentasi (larutan asam, atau cuka).

(2) Metode Modern

- Penggunaan pengawet kimia: pengawetan dilakukan dengan memberikan bahan pengawet kimia seperti Asam benzoat, nisin dan sulfit.
- Pasteurisasi
- Freeze drying
- Kemasan vakum
- Irradiasi
- Biopreservasi

D. Penyakit Bawaan Makanan

a. Jenis – Jenis Penyakit Bawaan Makanan dan Bakteri Penyebabnya

Foodborne diseases atau penyakit bawaan makanan merupakan masalah kesehatan masyarakat yang menyebabkan dampak sosial ekonomi yang cukup besar. Bakteri menjadi penyebab paling umum dari penyakit bawaan makanan dan ada dalam berbagai bentuk, jenis dan sifat. Penularan penyakit melalui makanan dapat digolongkan menjadi 2 yaitu infeksi makanan (*food infection*) dan keracunan makanan (*food poisoning*). Infeksi makanan terjadi ketika patogen tertelan bersama makanan dan biasanya berkembang biak di inang manusia sedangkan keracunan makanan terjadi ketika patogen toksigenik berkembang biak dalam produk makanan dan menghasilkan toksin, yang kemudian tertelan oleh inang manusia. Namun ada juga bakteri patogen yang tertelan dan berkembang biak sertamenghasilkan toksin. Pada infeksi bawaan makanan, karena masa inkubasi biasanya terlibat, waktu dari konsumsi hingga gejala muncul jauh lebih lama dibandingkan dengan keracunan makanan (Muna & Khariri, 2020), (Bintsis, 2017). Penyakit bawaan makanan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu keracunan, infeksi, dan infeksi toksik. Bakteri-bakteri yang menjadi penyebab penyakit bawaan makanan terlihat pada Tabel 4 berikut ini.

Tabel 4. Bakteri Penyebab Penyakit Bawaan Makanan

	Bakteri Penyebab	Tipe Gejala
Keracunan		
Keracunan Staph	<i>Staphylococcus aureus</i>	Muntah, Diare
Botulisme	<i>Clostridium botulinum</i>	Neurologis
Infeksi		
Salmonellosis	Lebih dari 2000 serovar <i>Salmonella enterica</i> (kecuali <i>S. typhi</i> dan <i>paratyphi</i>)	Diare
Enteritis Campylobacter	<i>Campylobacter jejuni</i> dan <i>Cam. strain koli</i>	Diare
Yersiniosis	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Diare
Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (EHEC)	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>E. coli</i> O26:H11	Diare hemoragik, sindrom uremik hemolitik
Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC)	<i>E. coli</i> O111:H12	Diare hemoragik
Shigellosis	Empat spesies <i>Shigella</i> (misal <i>S. dysenterae</i>)	Diare mukoid berdarah
Gastroenteritis <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Diare, hepatitis
Infeksi <i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>	Diare, hepatitis
Brucellosis	<i>Brucella abortus</i>	Gastrik dan nongastrik
Listeriosis	<i>Listeria monocytogenes</i>	Demam, meningitis, abortus, diare (jarang)

Toxico-Infeksi		
Gastroenteritis <i>Clostridium perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	Muntah, diare
Gastroenteritis <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Muntah, diare
Gastroenteritis <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Diare pelancong
Kolera	<i>Vibrio cholerae</i>	Diare

E. Deteksi Bakteri Pada Makanan dan Minuman

Kasus penyakit bawaan makanan dan minuman meningkat dengan berbagai faktor, seperti perubahan munculnya bakteri resisten antibiotik, adaptasi bakteri terhadap perubahan lingkungan, perubahan dalam pengolahan, produksi, dan distribusi makanan, paparan air minum yang tidak aman, sistem kontrol sanitasi yang tidak memadai, layanan kesehatan masyarakat yang tidak memadai, dan peningkatan perjalanan internasional.

Mengingat situasi ini, kontaminasi bakteri harus dideteksi dan dipantau untuk memastikan keamanan lingkungan dan makanan serta mengurangi kejadian penyakit terkait infeksi bakteri (Kim & Yoo, 2022).

Metode yang digunakan untuk evaluasi mikrobiologi atau deteksi makanan, bahan makanan, dan lingkungan secara luas dikelompokkan sebagai **metode kuantitatif dan kualitatif**. Metode kuantitatif dirancang untuk menghitung atau memperkirakan jumlah mikroba secara langsung atau tidak langsung dalam bahan uji. Contoh dari beberapa metode kuantitatif yang digunakan adalah jumlah lempeng aerobik total, jumlah anaerobik, jumlah psikrotrofik, jumlah termodur, jumlah

coliform dan jumlah *Staphylococcus aureus*. Sebaliknya, metode kualitatif dirancang untuk menentukan apakah jumlah yang representatif (sampel) dari suatu makanan atau sejumlah sampel tertentu dalam suatu batch makanan mengandung spesies mikroba tertentu di antara populasi mikroba total atau tidak. Metode ini digunakan untuk mendeteksi kemungkinan adanya patogen bawaan makanan tertentu, terutama yang mampu menimbulkan tingkat kematian yang tinggi di kalangan konsumen. *Salmonella*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli* O157:H7 dan *E.coli* penghasil toksin Shiga lainnya (STEC), dan *Listeria monocytogenes* (Ray & Bhunia, 2013).

1. Metode Kuantitatif untuk Penghitungan Jumlah Mikroba dalam Makanan

a. Penghitungan langsung

(1) Hitungan mikroskopis

Pada metode ini, baik sel yang diwarnai di bawah bidang terang atau sel hidup di bawah mikroskop fase kontras dapat dihitung. Jumlah ini dapat dinyatakan sebagai jumlah mikroskopis per mililiter atau gram sampel makanan. Namun, sel hidup dan sel mati tidak dapat dibedakan dengan metode ini. Selain itu, sampel harus memiliki mikroorganisme dalam jumlah besar ($\approx 10^6$ /mL, g) agar metode ini dapat digunakan secara efektif.

(2) Colony Forming Unit (CFU) dalam Media Agar Nonselektif

Pengenceran terpilih dari sampel yang diencerkan secara berurutan (umumnya berdasarkan jumlah yang diharapkan dalam makanan, baik dituang atau disebar pada media

nonselektif, seperti *Plate Count Agar* (PCA), *Tryptic Soy Agar* (TSB), *Nutrient Agar*, *Bran Heart Infusion Agar* dan lain-lain. Penggunaan media yang berbeda dapat memberikan hasil yang berbeda. Namun, PCA direkomendasikan untuk penentuan Colony Forming Unit (CFU).

(3) CFU dalam *Nonselective Differential Chromogenic Media*

Media nonselektif dilengkapi dengan agen yang mampu membedakan koloni yang dihasilkan oleh kelompok mikroorganisme tertentu yang berbeda dalam karakteristik metabolisme atau fisiologis satu sama lain dalam populasi dengan menghasilkan pigmen kromogenik. Indikator pH atau indikator oksidasi-reduksi sering digunakan dalam medium.

(4) CFU dalam Media Agar Selektif

Sebuah media dapat dilengkapi dengan satu atau lebih agen selektif atau penghambat, seperti antibiotik, garam, dan sebagainya, dan digunakan dengan menuangkan atau menyebarkan sampel yang diencerkan secara berurutan. Dengan adanya agen seperti itu, hanya mikroorganisme yang resisten terhadapnya yang dapat tumbuh.

(5) CFU dalam Media *Selective-Differential Chromogenic Agar*

Dalam metode ini, media dilengkapi dengan satu atau lebih agen selektif untuk memungkinkan pertumbuhan selektif dari kelompok mikroba resisten tertentu sambil menghambat pertumbuhan mikroorganisme asosiasi sensitif lainnya. Selain agen selektif, media juga dilengkapi dengan agen yang memungkinkan setiap jenis di antara kelompok mikroba selektif menghasilkan koloni dengan

pigmen (kromogenik) yang berbeda karakteristik satu sama lain. *Violet red bile agar* untuk koliform, *KF-azide agar* untuk *Enterococcus* spp., *V-J agar* atau *Baird-Parker agar* untuk *S. aureus*, dan media yang direkomendasikan untuk penghitungan beberapa patogen (misalnya, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *L. monocytogenes*, *C. perfringens*, *Aeromonas hydrophila*) adalah media agar selektif dan diferensial.

b. Estimasi Tidak Langsung

(1) *Most Probable Number* (MPN) dalam Kaldu Selektif

Dalam metode ini, alikuot dari sampel yang diencerkan secara serial diinokulasikan ke dalam kaldu (dalam tabung) yang memiliki satu atau lebih zat selektif yang memfasilitasi pertumbuhan kelompok mikroba terpilih yang ada dalam makanan. Umumnya, tiga atau lima tabung kaldu di setiap pengenceran dan minimal tiga pengenceran berturut-turut digunakan. Setelah inkubasi pada suhu dan waktu yang direkomendasikan, tabung kaldu di setiap pengenceran diberi skor untuk ada tidaknya pertumbuhan. Dari jumlah tabung yang menunjukkan pertumbuhan di masing-masing dari tiga pengenceran berturut-turut, jumlah sel yang layak dari kelompok mikroba tertentu dapat diperkirakan dari tabel perhitungan statistik yang tersedia. Metode ini juga memberikan variasi yang luas. Metode MPN cukup sering digunakan untuk estimasi coliform dan fecal coliform dalam makanan dan air masing-masing menggunakan *brilliant green lactose bile broth* dan *E-C broth*.

(2) Tes Reduksi Pewarna

Metode ini didasarkan pada prinsip bahwa beberapa pewarna, seperti metilen biru dan resazurin, diwarnai dalam

keadaan teroksidasi tetapi tidak berwarna dalam kondisi tereduksi. Perubahan ini dapat terjadi sebagai akibat dari metabolisme dan pertumbuhan mikroba. Diasumsikan bahwa tingkat reduksi selama inkubasi dari konsentrasi tertentu biru metilen yang ditambahkan ke makanan berbanding lurus dengan muatan mikroba awal dalam makanan. Namun, karena kelompok mikroba dalam kultur campuran dalam suatu makanan berbeda dalam laju metabolisme dan pertumbuhan serta kemampuan untuk mengurangi lingkungan, metode ini dianggap tidak terlalu akurat dan efektif untuk makanan yang berbeda. Metode ini umumnya digunakan untuk menentukan kualitas mikrobiologi susu mentah.

2. Metode Kualitatif Isolasi Mikroorganisme Dalam Pangan

a. Isolasi Patogen

Tujuan utama dari metode ini adalah untuk menentukan apakah sampel mengandung atau tidak mengandung sel atau spora patogen tertentu. Makanan diuji untuk beberapa patogen, seperti *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *E. coli* penghasil toksin Shiga. (STEC), *L. monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, dan *Shigella* spp., dengan prosedur isolasi khusus bila diperlukan. Untuk patogen lain, seperti Enteropathogenic *E. coli*, *Y. enterocolitica*, dan *C. jejuni*, prosedur isolasi umumnya tidak digunakan; sebagai gantinya digunakan prosedur penghitungan. Prosedur isolasi umumnya terdiri dari beberapa langkah, seperti pengayaan awal nonselektif diikuti dengan pengayaan selektif dan kemudian pengujian pada media agar yang mengandung agen selektif dan diferensial. Hal ini umumnya dianggap sebagai tes dugaan. Untuk konfirmasi,

sel-sel dari koloni karakteristik dimurnikan dan diperiksa dengan metode yang direkomendasikan untuk profil reaksi biokimia, reaksi serologis terhadap antibodi spesifik, uji aliran imunokromatografi lateral, atau dengan *polymerase chain reaction* (PCR). Isolasi patogen menggunakan metode konvensional dapat memakan waktu 10-12 hari, tergantung pada spesies tertentu.

b. Uji Racun Bakteri dalam Makanan

S. aureus, *C. botulinum*, *Bacillus cereus* dan *Vibrio parahaemolyticus*, yang tumbuh dalam makanan mampu menghasilkan toksin dan menyebabkan intoksikasi atau keracunan makanan di kalangan konsumen. Metode khusus telah dikembangkan untuk menguji keberadaan racun yang dicurigai dalam makanan. Untuk mendeteksi enterotoksin *S. aureus* dalam makanan, metode yang direkomendasikan adalah mengekstrak toksin dari 100 g makanan terlebih dahulu dan kemudian memekatkan toksin dalam 0,2 mL air steril atau 0,2 M saline. Adanya toksin dalam ekstrak pekat kemudian diuji terhadap antibodi spesifik dengan metode presipitasi microslide.

c. Metode Cepat dan Otomasi

(1) Sidik Jari Metabolik

Setiap spesies bakteri memiliki kebutuhan karbon atau nitrogen yang unik untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup. Ketika gula (sumber karbon) atau asam amino (sumber nitrogen) yang sesuai disediakan, mikroba akan memetabolisme dan menghasilkan produk sampingan, seperti asam atau ionik, yang akan mereduksi indikator tidak berwarna seperti garam tetrazolium menjadi produk berwarna ungu, menghasilkan produk yang unik. Metode

ini membutuhkan kultur murni dan sifat fisiologis tertentu, seperti pewarnaan gram, kebutuhan oksigen, dan suhu optimum pertumbuhan, sebelum menerapkan teknik ini untuk deteksi. Kit uji biokimia miniatur (strip API) tersedia secara komersial untuk mikroorganisme yang berbeda.

(2) Immunoassay untuk Deteksi Cepat Patogen

Beberapa metode cepat dan otomatis telah dikembangkan yang bergantung pada reaksi antigen-antibodi spesifik dan produksi aglutinasi, pembentukan warna dari substrat kromogenik, pembentukan imunoband, atau fluoresensi. Diagnosis patogen sangat bergantung pada antibodi. Metode pengujian berbasis antibodi bersifat sederhana dan tidak terlalu rumit serta memiliki hasil yang mudah diinterpretasikan. Metode ini memungkinkan deteksi sel utuh, racun yang dikeluarkannya, atau produk sampingan metabolik. Namun, metode ini mungkin tidak dapat membedakan antara sel hidup dan sel mati meskipun sel hidup menjadi perhatian keamanan pangan. Beberapa metode immunoassay untuk deteksi cepat patogen yaitu *Immunomagnetic Separation* (IMS), *Reverse Passive Latex Agglutination* (RPLA), *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), *Immunofluorescence Assay*, *Immunochromatographic Lateral Flow Assay* dan *Flow Cytometry*.

d. Metode Molekuler

(1) Metode Hibridisasi

Dalam metode ini, disiapkan *probe* DNA yang terdiri dari urutan basa 20 hingga 4000 nukleotida yang unik untuk sekelompok patogen serupa, seperti *Salmonella* spp. Urutan unik dapat diidentifikasi dalam DNA atau rRNA dalam sel atau dari urutan asam amino dari toksin yang dihasilkan oleh kelompok bakteri. *Probe* DNA kemudian

dapat diperoleh dari DNA sel atau disintesis dari nukleotida. Jika autoradiografi digunakan untuk pendeteksiannya probe diberi radiolabel dengan ^{32}P , setelah hibridisasi. Dalam metode *Nonisotopic Colorimetric*, enzim (misalnya, peroksidase) terikat pada protein tertentu (misalnya, streptavidin), yang nantinya akan berikatan dengan ligan tertentu (misalnya, biotin) pada probe DNA dan dapat digunakan untuk menghasilkan reaksi warna untuk membantu dalam pengukuran.

(2) ***Polymerase Chain Reaction (PCR)***

Metode berbasis DNA yang paling banyak digunakan adalah PCR. Segmen gen yang spesifik untuk patogen diamplifikasi beberapa kali lipat dengan menggunakan sepasang primer spesifik (sepotong kecil DNA dengan panjang sekitar 20 pasangan basa). Langkah-langkah PCR meliputi denaturasi DNA untai ganda, *annealing* atau penempelan primer, pemanjangan untaian dengan Taq polimerase yang stabil terhadap panas dan amplifikasi. Setelah amplifikasi selama 30–35 siklus, satu gen dapat diamplifikasi menjadi jutaan salinan, yang kemudian dipisahkan dalam gel agarosa untuk identifikasi visual. Multiplex PCR telah dikembangkan untuk meningkatkan spesifisitas pengujian dengan menargetkan banyak gen dalam satu tabung reaksi. Metode tersebut telah dikembangkan untuk mendeteksi patogen, seperti *L. monocytogenes*, *S. enterica*, *E. coli*, *Campylobacter* patogen, *Y. enterocolitica*, *S. aureus*, *C. botulinum*, *B. cereus*, dan *V. vulnificus*.

Daftar Pustaka

- Addis, M., & Sisay, D. (2015). Journal of Tropical Diseases A Review on Major Food Borne Bacterial Illnesses. *Journal of Tropical Diseases*, 3(4), 1–7. <https://doi.org/10.4176/2329891X.1000176>
- Bintsis, T. (2017). Foodborne pathogens. *AIMS Microbiology*, 3(3), 529–563. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.529>
- Das, S., Singha, R., Rai, C., & Roy, A. (2014). Isolation and characterization of bacteria with spoilage potential from some refrigerated foods of West Bengal, India. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 3(9), 630–639. <http://www.ijcmas.com>
- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., & Givskov, M. (2002). Food spoilage - Interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1–2), 79–97. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00233-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00233-7)
- Húngaro, H. M., Peña, W. E. L., Silva, N. B. M., Carvalho, R. V., Alvarenga, V. O., & Sant’Ana, A. S. (2014). Food Microbiology. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, December, 213–231. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00059-0>
- Kim, D. M., & Yoo, S. M. (2022). Colorimetric Systems for the Detection of Bacterial Contamination: Strategy and Applications. *Biosensors*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/bios12070532>
- Kumar, A. (2019). Food Preservation: Traditional and Modern Techniques. *Acta Scientific Nutritional Health*, 3(12), 45–49.

- <https://doi.org/10.31080/asnh.2019.03.0529>
- Maru, M. (n.d.). *Journal of Food: Microbiology , Safety & .* 1–2.
<https://doi.org/10.35248/2476-2059-22.7.172>.Citation
- Muna, F., & Khariri. (2020). Bakteri patogen penyebab foodborne disease. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 6(1), 74–79.
<https://journal3.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/article/view/15374>
- Pal, M., & Demissie, K. (2014). Microbial Food Safety: A Challenge to Public Health Source water treatment Efficacy View project. *Beverage & Food World*, 41(February 2015).
<https://www.researchgate.net/publication/271701096>
- Preetha, S. S., & Narayanan, R. (2020). Factors Influencing the Development of Microbes in Food. *Shanlax International Journal of Arts, Science and Humanities*, 7(3), 57–77.
<https://doi.org/10.34293/sijash.v7i3.473>
- Ray, B., & Bhunia, A. (2013). Fundamental food microbiology: Fifth edition. In *Fundamental Food Microbiology: Fifth Edition*.
<https://doi.org/10.1201/9781420007749>
- Sahu, M., & Bala, S. (2017). Food Processing, Food Spoilage and their Prevention: An Overview. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, 3(1), 753–759.
<https://doi.org/10.21276/ijlssr.2017.3.1.1>
- Şanlıer, N., Gökçen, B. B., & Sezgin, A. C. (2019). Health benefits of fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(3), 506–527.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1383355>
- Sharma, R., Garg, P., Kumar, P., Bhatia, S. K., & Kulshrestha, S. (2020). Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods. *Fermentation*, 6(4), 1–20.
<https://doi.org/10.3390/fermentation6040106>

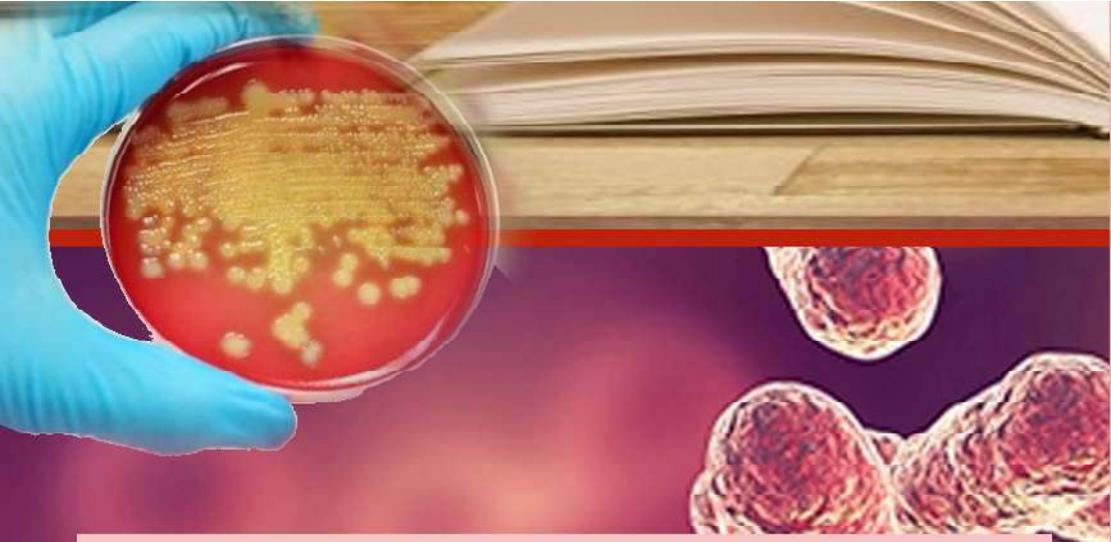
- Sharma, S., Agarwal, N., & Verma, P. (2012). Probiotics: The emissaries of health from microbial world. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(1), 138–143.
- Sherawat, M., Rahi, R. K., Gupta, V., Neelam, D., & DevkiSain, D. (2021). Prevention and Control of Food Spoilage: An Overview (Review Article). *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 11(1), 124–130. <https://doi.org/10.21276/ijpbs.2021.11.1.16>
- SNI. (2009). SNI 7388:2009 Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan. *Standar Nasional Indonesia*, 17.
- Thantsha, M. S., Mamvura, C. I., & Booyens, J. (2012). Probiotics - What They Are, Their Benefits and Challenges. *New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology*, April. <https://doi.org/10.5772/32889>
- Zhao, X., Lin, C. W., Wang, J., & Oh, D. H. (2014). Advances in rapid detection methods for foodborne pathogens. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(3), 297–312. <https://doi.org/10.4014/jmb.1310.10013>

Tentang Penulis



Wulan Fitriani Safari., Lahir di Desa Seleman, sebuah desa yang terlatak di provinsi Sumatera Selatan pada 25 April 1990. Pendidikan S1 ditempuh di Universitas Sriwijaya dan lulus pada tahun 2011. Pendidikan S2 Mikrobiologi lulus tahun 2015 di Institut Pertanian Bogor (IPB). Saat ini menjadi dosen di Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis,

Universitas Binawan



Buku Bakteriologi ini disusun khusus untuk mahasiswa bidang kesehatan dalam menunjang kegiatan pembelajaran baik dikelas maupun di laboratorium. Secara umum buku ini berisi tentang pemahaman ilmu bakteri mulai dari teori sampai prosedur pemeriksaan yang terkait dengan keterampilan menganalisis di laboratorium. Buku ini disusun dalam 14 bab. Pada bab Awal akan dibahas mengenai morfologi, struktur dan fisiologi bakteri serta bagaimana bakteri dapat tumbuh dan bereproduksi, lalu dilanjutkan dengan teori tentang genetika dan metabolisme nya. Dalam buku ini juga akan dipelajari kumpulan mikroba yang secara umum memiliki sifat komensal, yang kita kenal sebagai mikroflora normal. Pembahasan selanjutnya adalah mengenai beberapa bakteri patogen yang tergolong dalam kelompok gram positif dan gram negatif, baik yang berbentuk kokus maupun batang serta cara pemeriksaannya di laboratorium. Penyebaran dan pengendalian bakteri akan menjadi bahasan yang menarik juga untuk dipelajari dalam buku ini. Untuk menganalisis bakteri di laboratorium dapat dilakukan dengan berbagai metode. Metode tersebut juga akan dibahas pada bab selanjutnya yaitu mengenai pewarnaan, uji biokimia, dan uji sensitivitas bakteri. Pembahasan dibuku ini akan diakhiri dengan bakteri yang hidup di air dan bakteri pada makanan dan minuman serta metode-metode dalam pemeriksaannya di laboratorium.



PT. MASAGENA MANDIRI MEDICA
Jalan Lanraki D' Palada House 9K
Paccorakkang, Kota Makassar
Telp. 0411-21068, HP/WA 087722209444
Email: mmm_publishing@yahoo.com

ISBN 978 602 71107 6 2



9 786027

110762