



Isolasi & Identifikasi Bakteri Klinik

Penulis:
apt. Mulia Susanti S.Far.,M.Pd
Argo Ganda Gumilar S.Tr. A.K



BUKU AJAR ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI KLINIK

**apt. Mulia Susanti, S.Far., M.Pd
Argo Ganda Gumilar, S.Tr.A.K**



ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI KLINIK

Penulis:

apt. Mulia Susanti S.Far.,M.Pd
Argo Ganda Gumilar S.Tr. A.K.

ISBN : 978-623-88883-7-5

Editor:

apt. Mulia Susanti S.Far.,M.Pd

Penerbit :

Yayasan Drestanta Pelita Indonesia
Anggota IKAPI No. 276/Anggota Luar Biasa/JTE/2023

Redaksi:

Jl. Kebon Rojo Selatan 1 No. 16, Kebon Batur.
Mranggen, Demak
Tlpn. 081262770266
Fax . (024) 8317391
Email: isbn@yayasandpi.or.id

Hak Cipta dilindungi Undang Undang
Dilarang memperbanyak Karya Tulis ini dalam bentuk apapun.

KATA PENGANTAR

Kepada Para Pembaca yang Terhormat,

Dengan rendah hati dan penuh penghargaan, saya dengan bangga mempersembahkan buku ini, yang berjudul "Isolasi & Identifikasi Bakteri Klinik". Buku ini merupakan hasil dari upaya kolaboratif dan dedikasi yang kuat dari berbagai pihak yang terlibat dalam proses penelitian dan penulisan.

Bakteri merupakan mikroorganisme yang memiliki peran penting dalam berbagai aspek kehidupan, termasuk dalam bidang kesehatan. Kemampuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri klinik menjadi sangat penting dalam upaya diagnosis, pengobatan, dan pencegahan penyakit-penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

Melalui buku ini, kami bertujuan untuk menyajikan informasi yang komprehensif dan terkini mengenai teknik isolasi dan identifikasi bakteri klinik. Mulai dari prinsip dasar isolasi hingga teknik-teknik identifikasi terkini yang digunakan dalam laboratorium klinik, buku ini dirancang untuk menjadi panduan praktis bagi para profesional kesehatan, peneliti, mahasiswa, dan siapa pun yang tertarik dalam bidang mikrobiologi klinis.

Penulisan buku ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Saya ingin mengucapkan terima kasih kepada tim peneliti dan penulis yang telah bekerja keras untuk mengumpulkan, menyusun, dan mengintegrasikan informasi yang berharga dalam buku ini. Saya juga ingin mengucapkan terima kasih kepada penerbit atas kesempatan untuk mewujudkan proyek ini.

Saya menyadari bahwa buku ini tidak sempurna dan masih memiliki kekurangan. Oleh karena itu, masukan dan kritik yang membangun dari para pembaca sangatlah dihargai guna perbaikan di masa mendatang.

Akhir kata, semoga buku ini dapat memberikan kontribusi yang berarti dalam pemahaman dan pengembangan ilmu mikrobiologi klinis, serta bermanfaat bagi perkembangan bidang kesehatan secara keseluruhan.

Salam hormat,

Pekalongan, 12 February 2024

Penyusun

TATA TERTIB

Menjaga keamanan praktikum :

1. Sebelum memasuki ruang laboratorium, mahasiswa wajib menggunakan jas laboratorium dan alat pelindung diri lainnya untuk menghindari kontaminasi dan terkena bahan kimia berbahaya.
2. Sebelum dan sesudah melaksanakan praktikum, disarankan untuk mencuci tangan dengan sabun yang telah disediakan.
3. Dilarang makan, minum, merokok, di dalam ruang laboratorium.
4. Sebelum dan sesudah praktikum dilakukan, meja dan peralatan dibersihkan dengan larutan desinfektan.
5. Mahasiswa berambut panjang dan tidak menggunakan kerudung harus mengikat rambutnya secara rapi untuk menghindari hal-hal tidak diinginkan, seperti terbakar spirtus.
6. Pengambilan kultur cair atau bahan kimia harus menggunakan pipet steril dan filler atau dapat juga menggunakan mikropipet.
7. Dilarang membuang biakan sisa, kultur, sisa cat disembarang tempat, barang-barang tersebut harus dibuang pada tempat yang telah disediakan, seperti dandang (biakan dan kultur) dan ember (sisa cat dan bahan kimia lain).
8. Segera laporkan apabila terjadi kecelakaan, seperti kebakaran, korsleting listrik, biakan atau kultur tumpah, tertelan bahan kimia, dll kepada asisten laboratorium atau pihak lain yang dapat diminta bantuannya.

Menjaga kelancaran praktikum :

1. Mahasiswa praktikum wajib menggunakan sepatu.
2. Saat praktikum berlangsung, mahasiswa dilarang berbicara yang tidak perlu atau membuat gaduh.
3. Waktu keterlambatan masuk praktikum tidak boleh lebih dari 10 menit.
4. Mahasiswa yang terlambat masuk praktikum lebih dari 10 menit tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
5. *Pre test* dilakukan sebelum dilaksanakan praktikum.
6. *Post test* dilakukan setelah dilaksanakan praktikum.

7. Mahasiswa yang akan berpindah jadwal praktikum harus dengan izin atau sepengetahuan asisten laboratorium.
8. Mahasiswa yang tidak masuk praktikum tanpa surat keterangan sakit dari dokter Rumah Sakit atau Puskesmas akan dianggap tidak hadir tanpa izin atau *absent*.
9. Mahasiswa harus membawa laporan praktikum selama berada di ruang laboratorium.
10. Mahasiswa wajib merawat dan menjaga alat-alat yang ada di dalam laboratorium.
11. Aturan dan tata tertib praktikum yang belum tercantum akan diputuskan kemudian.

DAFTAR ISI

BAB I Pengecatan Gram.....	7
BAB II Media dan Reagen Uji Biokimia Bakteri Gram Positif.....	9
1. Media BAP (Blood Agar Plate).....	9
2. Media MSA (Mannitol Salt Agar).....	9
3. Media MHA (Mueller Hinton Agar).....	9
4. Media BPA (Baird-Parker Agar).....	10
5. Media MYPA (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar).....	10
6. Uji Katalase.....	10
7. Uji CPT (Coagulation Plasma Test) 10	
BAB III Identifikasi Bakteri Gram Positif Streptococcus sp. (Beta Hemolysis).....	11
BAB IV Identifikasi Bakteri Gram Positif Streptococcus sp. (Alpha Hemolysis).....	13
BAB V Identifikasi Bakteri Gram Positif Staphylococcus aureus.....	15
BAB VI Identifikasi Bakteri Gram Positif Staphylococcus epidermidis.....	18
BAB VII Identifikasi Bakteri Gram Positif Staphylococcus saprophyticus.....	21
BAB VIII Identifikasi Bakteri Gram Positif Bacillus subtilis dan Bacillus cereus.....	25
BAB IX Media Biokimia Gram Negatif.....	29
1. Media MCA (Mac Conkey Agar).....	29
2. Media EA (Endo Agar).....	29
3. Media EMBA (Eosin Methylene Blue Agar).....	29
4. Media Cetrimide.....	30
5. Media TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose).....	30
6. Media APW (Alkaline Peptone Water).....	30
7. Media SSA (Salmonella Shigella Agar).....	30
8. Media Chromogenic.....	30
9. Media Gula-gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, Mannosa).....	31
10. Media SIM (Sulfide, Indole, Motile).....	31
11. Media MR (Methyl Red) dan VP (Voges Proskauer).....	31
12. Media Simmon's Citrate.....	31
13. Media Urea.....	32
14. Media TSIA (Triple Sugar Iron Agar).....	32
15. Media LIA (Lysine Iron Agar).....	32
16. Media PAD (Phenylalanine Deaminase).....	32
17. Uji Oksidase.....	33
18. Uji String.....	33
BAB X Identifikasi Bakteri Gram Negatif Escherichia coli.....	34
BAB XI Identifikasi Bakteri Gram Negatif Klebsiella pneumoniae.....	37
BAB XII Identifikasi Bakteri Gram Negatif Klebsiella aerogenes.....	40
BAB XIII Identifikasi Bakteri Gram Negatif Serratia marcescens.....	43
BAB XIV Identifikasi Bakteri Gram Negatif Salmonella enterica Typhi.....	46
BAB XV Identifikasi Bakteri Gram Negatif Salmonella enterica Paratyphi A.....	49
BAB XVI Identifikasi Bakteri Gram Negatif Salmonella enterica Paratyphi B.....	52
BAB XVII Identifikasi Bakteri Gram Negatif Shigella flexneri.....	55
BAB XVIII Identifikasi Bakteri Gram Negatif Shigella sonnei.....	58
BAB XIX Identifikasi Bakteri Gram Negatif Proteus mirabilis.....	61
BAB XX Identifikasi Bakteri Gram Negatif Proteus vulgaris.....	64
BAB XXI Identifikasi Bakteri Gram Negatif Pseudomonas aeruginosa.....	67
BAB XXII Identifikasi Bakteri Gram Negatif Vibrio cholerae.....	71
Latihan Soal.....	75
Daftar Pustaka.....	82
Lampiran 1. Bagan Identifikasi Bakteri.....	86
Lampiran 2. Tabel Uji Biokimia Bakteri.....	87

BAB I PENGECATAN GRAM

A. Capaian Pembelajaran

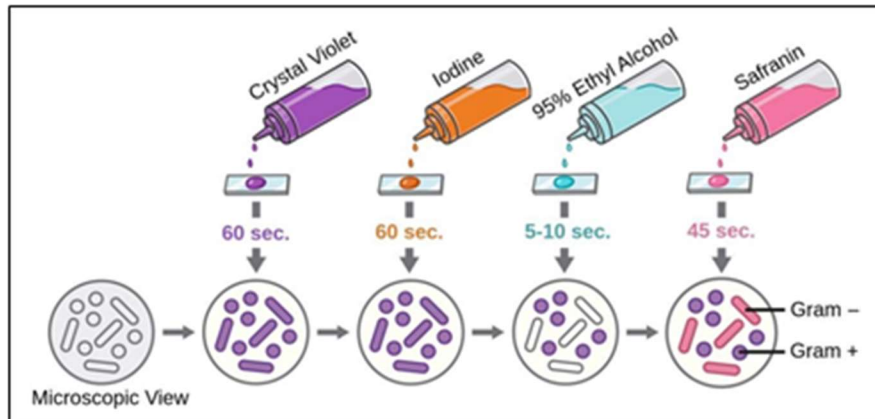
Mahasiswa terampil dalam melakukan pengecatan sel bakteri dengan teknik pengecatan gram

B. Materi

Morfologi sel bakteri dapat diketahui dengan cara pengecatan menggunakan cat khusus, salah satunya dengan menggunakan cat gram. Cat gram digunakan untuk membedakan struktur dinding bakteri. Bakteri dengan dinding peptidoglikan tebal sebagai Gram positif, sedangkan bakteri dengan dinding peptidoglikan tipis sebagai Gram negatif.

Terdapat 4 (empat) macam cat gram, yaitu cat Gram A, B, C, dan D. Cat Gram A (Kristal Violet) berfungsi sebagai pewarna awal bakteri, cat Gram B (Iodin) berfungsi menguatkan cat Gram A, cat Gram C (Etil Alkohol) berfungsi melunturkan cat Gram A, dan cat Gram D (Safranin) berfungsi mewarnai bakteri yang tidak terwarnai cat Gram A karena dilunturkan cat Gram C. Hasil dari pengecatan Gram adalah bakteri Gram positif akan berwarna ungu karena bakteri ini memiliki dinding peptidoglikan yang tebal, sehingga tidak dapat dilunturkan oleh cat Gram C. Sedangkan, bakteri Gram negatif akan berwarna merah karena dindingnya tersusun dari lapisan lemak, protein, dan lipopolisakarida (pada bagian luar) dan peptidoglikan (pada bagian tengah) yang cukup tipis, sehingga ketika dilunturkan dengan cat Gram C warna ungu dari cat Gram A akan luntur dan digantikan oleh warna merah dari cat Gram D. Prosedur pengecatan Gram sebagai berikut :

1. Buat pulasan bakteri di atas *object glass*.
2. Fiksasi *object glass* dengan melewati di atas api spiritus.
3. Teteskan cat Gram A hingga menutupi pulasan dan tunggu selama 3 menit.
4. Bilas dengan air, teteskan cat Gram B hingga menutupi pulasan dan tunggu selama 1 menit.
5. Bilas dengan air, teteskan demi tetes cat Gram C hingga warna ungu pada *object glass* luntur.
6. Bilas dengan air, teteskan cat Gram D dan tunggu selama 2 menit.
7. Bilas dengan air, kemudian keringkan.
8. Amati preparat di bawah mikroskop dengan perbesaran kuat dan penambahan minyak imersi.



Ilustrasi pengecatan Gram oleh Labster Theory menggunakan waktu yang lebih singkat, yaitu Cat Gram A (1 menit), Cat Gram B (1 menit), Cat Gram C (10 detik), dan Cat Gram D (45 detik). Sumber : <https://theory.labster.com/steps-gramstain/>

BAB II

MEDIA DAN REAGEN UJI BOKIMIA BAKTERI GRAM POSITIF

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa memahami media-media yang dipergunakan dalam identifikasi bakteri Gram Positif

1. Media BAP (*Blood Agar Plate*)



BAP merupakan media pertumbuhan bakteri yang dalam pembuatannya ditambahkan darah domba 5%. BAP disebut sebagai media *differential* dan *universal*. Disebut media *differential* karena BAP digunakan untuk membedakan bakteri hemolitik dengan bakteri non-hemolitik. Hemolitik adalah kemampuan bakteri dalam melisis/memecahkan sel darah merah. Sedangkan, dikatakan media *universal* karena media ini dapat ditumbuhi berbagai jenis bakteri baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

2. Media MSA (*Mannitol Salt Agar*)



MSA merupakan media selektif dan *differential* untuk identifikasi genus *Staphylococcus sp.* Media ini mengandung garam atau *Natrium Chlorida* (NaCl) 7,5% menjadikan media ini selektif karena sebagian besar bakteri tidak dapat tumbuh pada kadar garam 7,5% kecuali *Staphylococcus sp.* Selain itu, MSA mengandung mannitol dan indikator pH *phenol red* yang membuat media ini sebagai media *differential*. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus saprophyticus* akan menghasilkan koloni dan media berwarna kuning karena dapat memfermentasi mannitol mengubah Ph media menjadi asam. Sedangkan, koloni *Staphylococcus epidermidis* menghasilkan koloni dan media berwarna merah muda karena tidak dapat memfermentasi mannitol.

3. Media MHA (*Mueller Hinton Agar*)



MHA merupakan media *universal*, yaitu dapat menumbuhkan semua jenis bakteri. MHA sangat baik untuk pengujian sensitifitas atau *susceptibility test* suatu bakteri karena media ini mengandung *starch* (tepung pati) yang berfungsi menyerap racun yang dikeluarkan bakteri, sehingga tidak mengganggu kerja antibiotik. Penanaman bakteri pada media ini dengan cara *spread plate* yang selanjutnya disk antibiotik diletakkan di atas rataan bakteri tersebut.

4. Media BPA (*Baird-Parker Agar*)



BPA merupakan media selektif dan *differential* untuk *Staphylococcus aureus* dari sampel makanan, lingkungan, dan klinis. BPA mengandung beberapa bahan, seperti *Lithium Klorida* dan *Glisin* yang menghambat bakteri lain dan menyuburkan *S. aureus*. *Tellurit* berfungsi sebagai indikator *S. aureus* yang memiliki koagulase positif, sehingga koloni berwarna hitam. Kuning telur atau *egg yolk* sebagai deteksi enzim lesitinase yang dimiliki *S. aureus* memunculkan area jernih (halo) disekitar koloni. Penambahan *Sulfamethazine* setelah *autoclave* akan menghambat pertumbuhan *Proteus sp.*

5. Media MYPA (*Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar*)

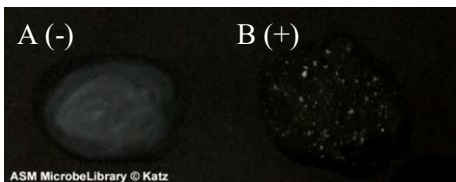


MYPA merupakan media selektif dan *differential* untuk identifikasi *Bacillus spp.*, khususnya untuk membedakan *B. subtilis* dengan *B. cereus* dalam kemampuannya memfermentasi mannitol. Media ini menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dengan adanya *Polymyxin B*. MYPA mirip dengan MSA, namun tanpa kandungan garam. *Bacillus subtilis* mampu memfermentasi mannitol sehingga memunculkan koloni dan media berwarna kuning, sedangkan *B. cereus* tidak dapat memfermentasi mannitol, sehingga koloni dan media berwarna merah muda dengan “halo” khas disekitar koloni sebagai hasil pemecahan lesitin oleh enzim lesitinase dari *B. cereus* menjadi digliserida yang tidak larut.

6. Uji Katalase

Uji ini merupakan uji untuk mengetahui apakah suatu bakteri memiliki enzim katalase yang berfungsi menguraikan senyawa racun H_2O_2 (*Hidrogen Peroksida*) menjadi H_2O (air) dan O_2 (oksigen). Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung pada koloni yang ditetesi dengan reagen H_2O_2 3%.

7. Uji CPT (*Coagulation Plasma Test*)



Pengujian CPT bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya enzim koagulase pada bakteri. Uji ini menggunakan darah yang dicampur antikoagulan *Natrium Citrate* 10% menghasilkan plasma citrate. Enzim koagulase yang dimiliki bakteri mengubah fibrinogen menjadi benang-benang fibrin menyebabkan penggumpalan dalam plasma. Spesies *Staphylococcus sp.* yang menghasilkan enzim koagulase dapat dikatakan lebih invasif dan patogen, seperti *S. aureus*.

BAB III
ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM POSITIF
***Streptococcus sp.* (Beta Hemolisis)**

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Streptococcus sp* (Beta Hemolisis)

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : darah, *cerebrospinal fluid*, secret vagina, sputum, secret tenggorokan, pus, urin, secret hidung, kerokan kulit, eksudat dan transudat, swab luka.
2. Media BAP.
3. Cat Gram A,B,C,D
4. Reagen H₂O₂ 3%.
5. Ose bulat, lampu spiritus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur

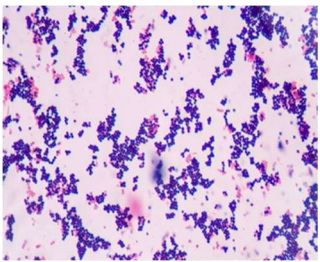

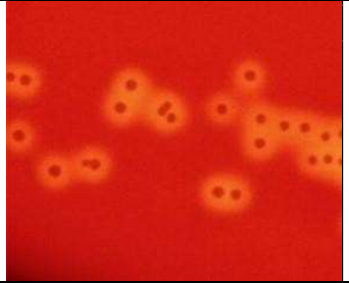
HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media BAP (*Blood Agar Plate*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Katalase
 - a) Siapkan *object glass* yang sudah dibersihkan dengan kapas alkohol.
 - b) Teteskan satu tetes reagen H₂O₂ 3% pada *object glass* tersebut.
 - c) Ambil sedikit koloni bakteri dari media BAP dengan ose jarum yang sudah dipanaskan.
 - d) Tempelkan ujung ose tersebut pada reagen H₂O₂ 3% yang terdapat pada *object glass*.
 - e) Amati ada tidaknya gelembung udara.
 - f) Hasil positif apabila terdapat gelembung udara.
 - g) Hasil positif menandakan bakteri mampu menghasilkan enzim katalase.
2. Melakukan pengamatan zona hemolisis pada media BAP, *Streptococcus sp.* (Beta Hemolisis) memiliki zona hemolisis total atau keseluruhan.

Hasil Pengamatan *Streptococcus sp.* (Beta Hemolisis) :

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat/ <i>coccus</i> Warna Sel : Ungu Susunan : Berderet Ukuran : Gram Positif	Terkadang pada inkubasi yang kurang lama di media BHIB, susunan masih berbentuk diplococcus atau sedikit bergerombol.
Media BAP	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Putih jernih Warna Media : Merah dengan hemolisis Ukuran : 0,2-0,5 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Beta Hemolisis/total	Koloni kecil-kecil dan jernih dengan zona hemolisis total disekitar koloni. Zona hemolisis mudah dilihat dengan latar belakang cahaya. 
Uji Katalase	Negatif (-)	Tidak menghasilkan gelembung udara.

Catatan :

1. Beberapa spesies *Streptococcus sp.* (Beta Hemolisis), antara lain :

- | | |
|---|--|
| a) <i>Streptococcus pyogenes</i> (Group A) | d) <i>Streptococcus zoopidemicus</i> (Group C) |
| b) <i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B) | e) <i>Streptococcus equi</i> (Group C) |
| c) <i>Streptococcus equisimilis</i> (Group C) | |

2. Pengujian antibiotik dengan Bacitracin

<i>Streptococcus pyogenes</i> (Group A)	Sensitif
<i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B)	Resisten
<i>Streptococcus equisimilis</i> (Group C)	Resisten
<i>Streptococcus zoopidemicus</i> (Group C)	Resisten
<i>Streptococcus equi</i> (Group C)	Resisten

BAB IV
ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM POSITIF
***Streptococcus sp.* (Alpha Hemolysis)**

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Streptococcus sp* (Alpha Hemolysis)

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : darah, *cerebrospinal fluid*, secret genital, saluran pencernaan, sputum, secret tenggorokan, pus, urin, secret hidung, kerokan kulit, eksudat dan transudat, swab luka.
2. Media BAP
3. Cat Gram A,B,C,D
4. Reagen H₂O₂ 3%
5. Ose bulat, lampu spiritus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

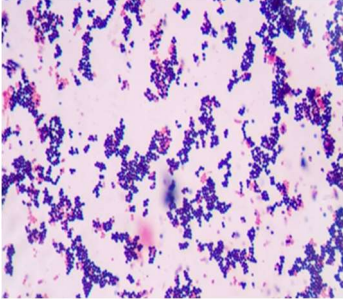


1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media BAP (*Blood Agar Plate*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Katalase
 - a) Siapkan *object glass* yang sudah dibersihkan dengan kapas alkohol.
 - b) Teteskan satu tetes reagen H₂O₂ 3% pada *object glass* tersebut.
 - c) Ambil sedikit koloni bakteri dari media BAP dengan ose jarum yang sudah dipanaskan.
 - d) Tempelkan ujung ose tersebut pada reagen H₂O₂ 3% yang terdapat pada *object glass*.
 - e) Amati ada tidaknya gelembung udara.
 - f) Hasil positif apabila terdapat gelembung udara.

- g) Hasil positif menandakan bakteri mampu menghasilkan enzim katalase.
2. Melakukan pengamatan zona hemolisis pada media BAP, *Streptococcus sp.* (Alpha Hemolysis) memiliki zona hemolisis sebagian atau parsial.

Hasil Pengamatan *Streptococcus sp.* (Alpha Hemolysis) :

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat/ <i>coccus</i> Warna Sel : Ungu Susunan : Berderet Ukuran : Gram Positif	Terkadang pada inkubasi yang kurang lama di media BHIB, susunan masih berbentuk diplococcus atau sedikit bergerombol.
Media BAP	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Putih jernih Warna Media : Merah dengan hemolisis Ukuran : 0,2-0,5 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Alpha Hemolisis/ sebagian	Koloni kecil-kecil dengan ciri hemolisis sebagian berwarna hijau di bawah koloni. Zona hemolisis mudah dilihat dengan latar belakang cahaya. 
Uji Katalase	Negatif (-)	Tidak menghasilkan gelembung udara.

Catatan :

- Beberapa spesies *Streptococcus sp.* (Alpha Hemolysis), antara lain :
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Viridans Group Streptococci (VGS), seperti *S. anginosus*, *S. mitis*, dan *S. sanguinis*.
- Bakteri alpha hemolisis disebut sebagai hemolisis sebagian atau parsial karena sel darah merah tidak benar-benar pecah/lisis, namun hemoglobin diubah menjadi methemoglobin yang berwarna hijau oleh *Hidrogen Peroksida* yang diproduksi oleh bakteri. Sedangkan, pada bakteri beta hemolisis atau juga disebut *complete hemolysis*, sel darah merah benar-benar pecah karena hemolisin (racun) yang dihasilkan bakteri menyebabkan zona jernih di bawah dan sekitar koloni.

BAB V
ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM POSITIF
Staphylococcus aureus

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi & identifikasi bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*

B. Alat dan bahan:

1. Spesimen : darah, *cerebrospinal fluid*, sputum, pus dariluka, kerokan kulit, swab telinga, swab faring, swab vagina, makanan dan minuman.
2. Media BAP, MSA, MHA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen H₂O₂ 3%, plasma citrate, disk antibiotik novobiocin.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media BAP (*Blood Agar Plate*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Penanaman pada media MSA (*Mannitol Salt Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media BAP.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

2. Uji Katalase
 - a) Siapkan *object glass* yang sudah dibersihkan dengan kapas alkohol.
 - b) Teteskan satu tetes reagen H₂O₂ 3% pada *object glass* tersebut.
 - c) Ambil sedikit koloni bakteri dari media BAP dengan ose jarum yang sudah dipanaskan.
 - d) Tempelkan ujung ose tersebut pada reagen H₂O₂ 3% yang terdapat pada *object glass*.
 - e) Amati adanya gelembung udara.
 - f) Hasil positif apabila terdapat gelembung udara.
 - g) Hasil positif menandakan bakteri mampu menghasilkan enzim katalase.
3. Penanaman pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) / Uji Sensitifitas
 - a) Tanam terlebih dahulu bakteri dari media BAP ke media BHIB steril.
 - b) Kemudian inkubasi selama ± 15 menit.
 - c) Kemudian dari BHIB tersebut tanam pada media MHA dengan cara perataan (*spread*), yaitu dengan menggunakan lidi kapas steril dicelupkan pada media BHIB tersebut.
 - d) Kemudian oleskan pada media MHA secara merata.
 - e) Letakkan disk antibiotik novobiocin di tengah media MHA tersebut.
 - f) Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - g) Amati zona hambat pertumbuhan bakterinya.

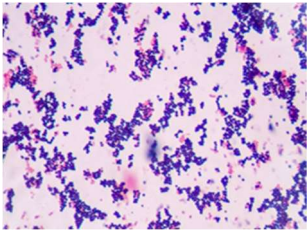




HARI III

1. Uji CPT (*Coagulation Plasma Test*)
 - a) Siapkan plasma citrate dengan cara sampling darah, kemudian dicampur *Natrium Citrate* dengan perbandingan 3 ml darah : 1 ml *Natrium Citrate*, di centrifuge, lalu ambil plasmanya.
 - b) Teteskan plasma citrate pada *object glass*.
 - c) Ambil koloni bakteri dengan ose jarum steril dari media MSA, lalu campurkan pada cairan plasma citrate tersebut.
 - d) Kemudian di rotator atau digoyang *object glass* tersebut selama 2-3 menit.
 - e) Amati adanya koagulasi atau gumpalan seperti butiran pasir.
 - f) Adanya butiran pasir tersebut menunjukkan hasil positif koagulasi.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Firmicutes
Kelas	Bacilli
Ordo	Bacillales
Famili	Staphylococcaceae
Genus	Staphylococcus
Spesies	<i>Staphylococcus aureus</i>

Hasil Pengamatan *Staphylococcus aureus*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat/ <i>coccus</i> Warna Sel : Ungu Susunan : Bergerombol Ukuran : Gram Positif	
Media BAP	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Krem, kuning, putih Warna Media : Merah Ukuran : 0,5-2 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non-Hemolisis/ Hemolisis	 <i>S. aureus</i> koloni putih
Media MSA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Kuning Warna Media : Kuning Ukuran : 0,5-1 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Fermenter Mannitol	Koloni berwarna kuning berukuran kecil-kecil.
Media MHA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Rataan Warna Koloni : Krem, kuning, putih Warna Media : Kuning Konsistensi : Lembek Zona Hambat : > 18 mm (Sensitif)	Penilaian zona hambat <i>S. aureus</i> terhadap novobiocin dapat dilihat dalam <i>Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)</i> .
Uji Katalase	Positif (+)	Menghasilkan gelembung udara.
Uji CPT	Positif (+)	Menghasilkan gumpalan menyerupai pasir kasar.

BAB VI
ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM POSITIF
Staphylococcus epidermidis

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri gram positif *Staphylococcus epidermidis*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : darah, *cerebrospinal fluid*, pus dari luka, dan kerokan kulit.
2. Media BAP, MSA, MHA
3. Cat Gram A,B,C,D
4. Reagen H₂O₂ 3%, plasma citrate, disk antibiotik novobiocin.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media BAP (*Blood Agar Plate*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Penanaman pada media MSA (*Mannitol Salt Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media BAP.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

2. Uji Katalase
 - a) Siapkan *object glass* yang sudah dibersihkan dengan kapas alkohol.
 - b) Teteskan satu tetes reagen H₂O₂ 3% pada *object glass* tersebut.
 - c) Ambil sedikit koloni bakteri dari media BAP dengan ose jarum yang sudah dipanaskan.
 - d) Tempelkan ujung ose tersebut pada reagen H₂O₂ 3% yang terdapat pada *object glass*.
 - e) Amati adanya gelembung udara.
 - f) Hasil positif apabila terdapat gelembung udara.
 - g) Hasil positif menandakan bakteri mampu menghasilkan enzim katalase.
3. Penanaman pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) / Uji Sensitifitas
 - a) Tanam terlebih dahulu bakteri dari media BAP ke media BHIB steril.
 - b) Kemudian inkubasi selama ± 15 menit.
 - c) Kemudian dari BHIB tersebut tanam pada media MHA dengan cara perataan (*spread*), yaitu dengan menggunakan lidi kapas steril dicelupkan pada media BHIB tersebut.
 - d) Kemudian oleskan pada media MHA secara merata.
 - e) Letakkan disk antibiotik novobiocin di tengah media MHA tersebut.
 - f) Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - g) Amati zona hambat pertumbuhan bakterinya.

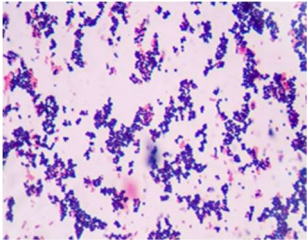



HARI III

1. Uji CPT (*Coagulation Plasma Test*)
 - a) Siapkan plasma citrate dengan cara sampling darah, kemudian dicampur *Natrium Citrate* dengan perbandingan 3 ml darah : 1 ml *Natrium Citrate*, di centrifuge, lalu ambil plasmanya.
 - b) Teteskan plasma citrate pada *object glass*.
 - c) Ambil koloni bakteri dengan ose jarum steril dari media MSA, lalu campurkan pada cairan plasma citrate tersebut.
 - d) Kemudian di rotator atau digoyang *object glass* tersebut selama 2-3 menit.
 - e) Amati adanya tidaknya koagulasi atau gumpalan seperti butiran pasir.
 - f) Tidak adanya butiran pasir tersebut menunjukkan hasil negatif koagulasi.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Firmicutes
Kelas	Bacilli
Ordo	Bacillales
Famili	Staphylococcaceae
Genus	Staphylococcus
Spesies	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

Hasil Pengamatan *Staphylococcus epidermidis*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat/ <i>coccus</i> Warna Sel : Ungu Susunan : Bergerombol Ukuran : Gram Positif	
Media BAP	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Putih susu Warna Media : Merah Ukuran : 0,5-1 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non-Hemolisis	Koloni berukuran kecil hingga sedang.
Media MSA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Putih kemerahan Warna Media : Merah muda Ukuran : 0,5-1 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non-Fermenter Mannitol	Koloni berwarna putih kemerahan berukuran kecil-kecil.
Media MHA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Rataan Warna Koloni : Putih susu Warna Media : Kuning Konsistensi : Lembek Zona Hambat : > 20 mm (Sensitif)	Koloni rata dengan warna putih susu. Zona hambat lebih lebar dibanding <i>S. aureus</i>
Uji Katalase	Positif (+)	Menghasilkan gelembung udara.
Uji CPT	Negatif (-)	Tidak menghasilkan gumpalan, keruh.

BAB VII
ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM POSITIF
Staphylococcus saprophyticus

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan isolasi dan identifikasi bakteri gram positif *Staphylococcus saprophyticus*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : urin, saluran pencernaan, produk daging, keju, sayuran, dan lingkungan sekitar.
2. Media BAP, MSA, MHA
3. Cat Gram A,B,C,D
4. Reagen H₂O₂ 3%, plasma citrate, disk antibiotik novobiocin
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spiritus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media BAP (*Blood Agar Plate*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Penanaman pada media MSA (*Mannitol Salt Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media BAP.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.

- h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
2. Uji Katalase
- a) Siapkan *object glass* yang sudah dibersihkan dengan kapas alkohol.
 - b) Teteskan satu tetes reagen H₂O₂ 3% pada *object glass* tersebut.
 - c) Ambil sedikit koloni bakteri dari media BAP dengan ose jarum yang sudah dipanaskan.
 - d) Tempelkan ujung ose tersebut pada reagen H₂O₂ 3% yang terdapat pada *object glass*.
 - e) Amati adanya gelembung udara.
 - f) Hasil positif apabila terdapat gelembung udara.
 - g) Hasil positif menandakan bakteri mampu menghasilkan enzim katalase.
3. Penanaman pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) / Uji Sensitivitas
- a) Tanam terlebih dahulu bakteri dari media BAP ke media BHIB steril.
 - b) Kemudian inkubasi selama ± 15 menit.
 - c) Kemudian dari BHIB tersebut tanam pada media MHA dengan cara perataan (*spread*), yaitu dengan menggunakan lidi kapas steril dicelupkan pada media BHIB tersebut.
 - d) Kemudian oleskan pada media MHA secara merata.
 - e) Letakkan disk antibiotik novobiocin di tengah media MHA tersebut.
 - f) Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - g) Amati zona hambat pertumbuhan bakterinya.

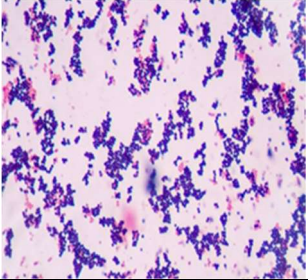


HARI III

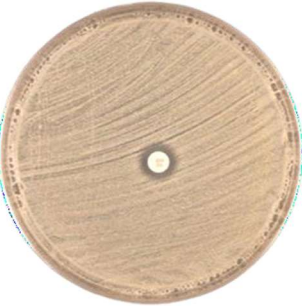
1. Uji CPT (*Coagulation Plasma Test*)
- a) Siapkan plasma citrate dengan cara sampling darah, kemudian dicampur *Sodium Citrate* dengan perbandingan 3 ml darah : 1 ml *Sodium Citrate*, di centrifuge, lalu ambil plasmanya.
 - b) Teteskan plasma citrate pada *object glass*.
 - c) Ambil koloni bakteri dengan ose jarum steril dari media MSA, lalu campurkan pada cairan plasma citrate tersebut.
 - d) Kemudian di rotator atau digoyang *object glass* tersebut selama 2-3 menit.
 - e) Amati ada tidaknya koagulasi atau gumpalan seperti butiran pasir.
 - f) Tidak adanya butiran pasir tersebut menunjukkan hasil negatif koagulasi.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Firmicutes
Kelas	Bacilli
Ordo	Bacillales
Famili	Staphylococcaceae
Genus	Staphylococcus
Spesies	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>

Hasil Pengamatan *Staphylococcus saprophyticus*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat/coccus Warna Sel : Ungu Susunan : Bergerombol Ukuran : Gram Positif	
Media BAP	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Putih Warna Media : Merah Ukuran : 0,5-1 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non-Hemolisis	Koloni berukuran kecil hingga sedang, mirip dengan <i>S. epidermidis</i> .
Media MSA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Kuning Warna Media : Kuning Ukuran : 0,5-1 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Fermenter Mannitol	Koloni berwarna kuning berukuran kecil-kecil.

Media MHA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Rataan Warna Koloni : Putih Warna Media : Kuning Konsistensi : Lembek Zona Hambat : < 17 mm (Resisten)	Koloni rata dengan warna putih susu. Zona hambat lebih kecil daripada <i>S. aureus</i> dan <i>S. epidermidis</i> .
Uji Katalase	Positif (+)	Menghasilkan gelembung udara.
Uji CPT	Negatif (-)	Tidak menghasilkan gumpalan, keruh.

BAB VIII
ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM POSITIF
Bacillus subtilis dan Bacillus cereus

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan isolasi dan identifikasi bakteri gram positif *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : tanah, air, udara, dan komensal pada usus manusia dan hewan.
2. Media BAP/NA dan MYPA.
3. Cat Gram A,B,C,D dan Malachite Green.
4. Reagen H₂O₂ 3%.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram dan Spora.
2. Penanaman media BAP (*Blood Agar Plate*) atau NA (*Nutrient Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Katalase
 - a) Siapkan *object glass* yang sudah dibersihkan dengan kapas alkohol. Teteskan satu tetes reagen H₂O₂ 3% pada *object glass* tersebut.
 - b) Ambil sedikit koloni bakteri dari media BAP dengan ose jarum yang sudah dipanaskan.
 - c) Tempelkan ujung ose tersebut pada reagen H₂O₂ 3% yang terdapat pada *object glass*.
 - d) Amati adanya gelembung udara.
 - e) Hasil positif apabila terdapat gelembung udara.
2. Penanaman Media MYPA (*Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar*)

- a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media BAP/NA.
 - c) Goreskan pada media secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
3. Penanaman Media Biokimia
- a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media BAP/NA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.
 - d) Ambil kembali bakteri pada media BAP/NA.
 - e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
 - f) Ambil kembali bakteri pada media BAP/NA.
 - g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

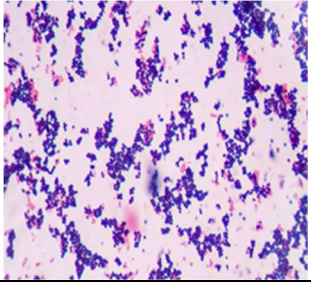


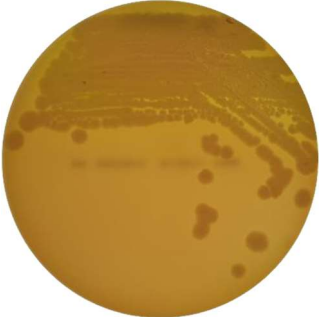
HARI III

1. Mengamati hasil dari media biokimia.
2. Mengamati hasil dari media MYPa.
3. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

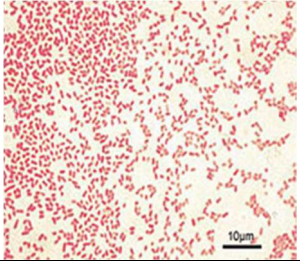

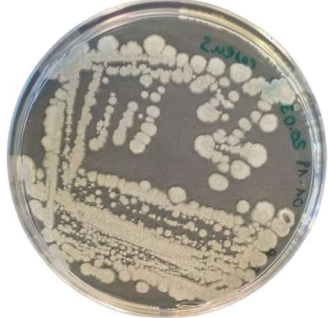

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Firmicutes
Kelas	Bacilli
Ordo	Bacillales
Famili	Bacillaceae
Genus	Bacillus
Spesies	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus cereus</i>

Hasil Pengamatan *Bacillus subtilis*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang/ <i>bacil</i> Warna Sel : Ungu Susunan : Menyebar/Berderet Ukuran : Gram Positif	Pengecatan Spora (+) :
Media BAP	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Putih keabu-abuan Warna Media : Merah Ukuran : 1-2 mm Tepian : Rata/Tidak rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Kering Sifat : Beta Hemolisa/total	Penampakan koloni <i>B. subtilis</i> pada media NA. Tampak koloni besar dan kering dengan bagian tengah berkerut. 
Media MYPA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Kuning Warna Media : Kuning Ukuran : 1-2 mm Tepian : Rata/Tidak rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Kering Sifat : Fermenter Mannitol	
Uji Katalase	Positif (+)	Menghasilkan gelembung udara.

Hasil Pengamatan *Bacillus cereus*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang/ <i>bacil</i> Warna Sel : Ungu Susunan : Menyebar/Berderet Ukuran : Gram Positif	Pengecatan Spora (+) :
Media BAP	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Putih keabu-abuan Warna Media : Merah Ukuran : 1-2 mm Tepian : Rata/Tidak rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Kering Sifat : Beta Hemolisa/total	Penampakan koloni <i>B. cereus</i> pada media NA. Tampak koloni besar dan kering dengan tepi tidak rata. 
Media MYPA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Merah muda Warna Media : Merah muda Ukuran : 1-2 mm Tepian : Rata/Tidak rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Kering Sifat : Non Fermenter Mannitol	<i>B. cereus</i> pada media MYPA, tampak koloni berwarna merah muda dengan “halo” khas (tanda panah) disekitar koloni.
Uji Katalase	Positif (+)	Menghasilkan gelembung udara.

BAB IX

MEDIA BIOKIMIA UNTUK BAKTERI GRAM NEGATIF

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa memahami media-media yang diperlukan pada proses isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif

B. Materi

1. Media MCA (*Mac Conkey Agar*)



Mac Conkey Agar merupakan media pertumbuhan bakteri yang termasuk media selektif dan *differential*. Jenis bakteri tertentu akan tumbuh dengan koloni yang khas apabila ditumbuhkan pada media ini, seperti berwarna merah muda atau coklat transparan. Komposisi MCA antara lain laktosa, garam empedu dan indikator merah netral (*netral red*). Media MCA akan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dengan adanya garam empedu. Bakteri Gram negatif yang tumbuh dapat dibedakan berdasarkan kemampuannya dalam memfermentasikan laktosa. Koloni bakteri yang dapat memfermentasikan laktosa akan berwarna merah muda, sedangkan koloni yang tidak dapat memfermentasikan laktosa memiliki warna coklat transparan atau hampir sama dengan warna media.

2. Media EA (*Endo Agar*)



Endo Agar merupakan media selektif dan *differential* yang digunakan untuk mengisolasi bakteri batang Gram negatif berdasarkan kemampuannya dalam memfermentasi laktosa. Pada bakteri yang dapat memfermentasi laktosa, seperti *Escherichia coli* dan *Klebsiella sp.* koloni dan media akan berwarna merah atau merah muda. Khusus *E. coli* memiliki koloni yang khas berwarna merah metalik. Sedangkan, bakteri yang tidak dapat memfermentasi laktosa, seperti *Salmonella sp.* dan *Shigella sp.* koloni dan media tidak berwarna atau transparan.

3. Media EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*)



Media EMBA merupakan media selektif dan *differential* yang digunakan untuk mengisolasi bakteri batang Gram negatif yang mirip dengan media *Endo Agar*. Media EMBA umum digunakan untuk isolasi bakteri Coliform terutama dari Fecal Coliform, *Escherichia coli*. Media EMBA memiliki kandungan gula Laktosa dan Sukrosa untuk membedakan bakteri fermenter dan mengandung Eosin Y dan Methylene Blue sebagai indikator pH dan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Interpretasi media EMBA adalah bakteri yang dapat memfermentasi Laktosa dan Sukrosa secara kuat akan menghasilkan pH asam, sehingga memunculkan koloni berwarna hijau metalik.

4. Media Cetrimide Agar



Cetrimide Agar merupakan media selektif yang khusus digunakan untuk menumbuhkan bakteri Gram negatif dari jenis *Pseudomonas aeruginosa*. Media ini mengandung *cetyl trimethylammonium bromide* atau cetrimide yang menghambat pertumbuhan bakteri lain termasuk genus *Pseudomonas* itu sendiri, kecuali *P. aeruginosa*. Cetrimide Agar juga meningkatkan produksi pigmen yang dimiliki *P. aeruginosa*, seperti pyocyanin dan pyoverdin.

5. Media TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose*)



Media TCBS merupakan media selektif dan *differential* untuk bakteri jenis *Vibrio sp.* *Vibrio cholerae* pada media TCBS akan memunculkan koloni berwarna kuning dengan warna media hijau, sedangkan *V. parahaemolyticus* memunculkan koloni berwarna hijau seperti warna media. Perubahan warna yang terjadi akibat fermentasi gula Sukrosa yang mengubah *bromthymol blue* dan *thymol blue* menjadi kuning karena pH media menjadi asam.

6. Media APW (*Alkali Peptone Water*)



Media APW merupakan media cair yang mirip dengan BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*) dan *Peptone Broth*. Media ini bisa juga dikatakan sebagai modifikasi dari *Peptone Broth* dengan penambahan *Sodium Klorida* (NaCl) 2% dan dinaikkan pH-nya menjadi 8,4-8,6 (basa), sehingga cocok sebagai media penyubur untuk *Vibrio sp.* Biasanya, apabila akan mengisolasi *Vibrio sp.*, sampel ditanam terlebih dahulu di dalam APW pada suhu 37°C selama 6-8 jam, selanjutnya ditanam di media TCBS.

7. Media SSA (*Salmonella Shigella Agar*)



Media SSA merupakan media selektif dan *differential* untuk menumbuhkan bakteri Gram negatif dari genus *Salmonella* dan *Shigella*. Walaupun bernama *Salmonella Shigella Agar*, media ini juga dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri Coliform, khususnya *E. coli*. Bakteri *Salmonella* penghasil sulfida, akan memunculkan koloni yang khas seperti mata kelinci atau *black center*.

8. Media Chromogenic Agar



Media *Chromogenic Agar* merupakan media selektif dan *differential* untuk mengidentifikasi berbagai bakteri maupun jamur target berdasarkan warna koloni yang muncul setelah inkubasi. Substrat kromogenik akan bereaksi dengan enzim spesifik yang diproduksi oleh bakteri atau jamur target dan melepaskan kromatofor (pembentuk warna).

Media ini membuat identifikasi menjadi lebih mudah, cepat, akurat, dan mengurangi pemakaian media biokimia yang lain.

9. Media Gula-gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, Mannosa)

Media gula-gula merupakan media cair yang berfungsi mengetahui apakah bakteri dapat memfermentasikan berbagai macam gula, seperti glukosa, laktosa, sukrosa, maltosa, dan mannos. Media gula-gula mengandung indikator *phenol red* yang apabila bakteri dapat memfermentasikan gula-gula, media akan berubah warna dari merah ke kuning. Media gula glukosa dilengkapi tabung Durham untuk menangkap gas oksigen yang dihasilkan bakteri dari proses fermentasi. Setiap media gula-gula memiliki warna kapas yang berbeda-beda, yaitu Glukosa (putih), Laktosa (ungu), Sukrosa (biru), Maltosa (merah), dan Mannosa (hijau).

10. Media SIM (*Sulfide, Indole, Motility Agar*)



Media SIM merupakan media semi padat tegak, digunakan untuk mengetahui :

- Indole : Indole adalah suatu zat yang dihasilkan oleh beberapa bakteri yang ditumbuhkan pada media yang mengandung triptopan (asam amino yang mengandung cincin indole). Terbentuknya indole diuji dengan penambahan reagen Erlich/kovach yang mengandung DAB (*Dimethyl Amino Benzaldehyd*).
- Sulfida : *Hidrogen Sulfida* (H_2S) yang berasal dari reduksi sulfur akan membentuk endapan hitam apabila bereaksi dengan besi (Fe) yang terkandung dalam media menjadi FeS .
- Motility : Kabut putih atau kekeruhan yang tampak pada media menandakan bahwa bakteri aktif bergerak atau memiliki alat gerak (flagel).

11. Media Media Methyl Red (MR) dan Voges Proskauer (VP)



- Methyl Red merupakan media cair yang berfungsi mengetahui apakah bakteri mampu menghasilkan asam campuran. Bakteri yang telah diinokulasi pada media ini dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian ditetesi oleh reagen MR, apabila bakteri menghasilkan asam maka media akan berubah warna dari kuning keruh ke merah.
- Voges Proskauer merupakan media cair yang berfungsi mengetahui apakah bakteri dapat menghasilkan acetoin (*acetylmethyl carbinol*), yaitu produk lanjutan dari *butylene glycol* dengan penambahan reagen KOH 40% dan α -naphthol. Hasil positif menunjukkan perubahan warna media dari kuning keruh menjadi merah.

12. Media Simmon's Citrate



Media Simmon's Citrate merupakan media padat miring yang berfungsi mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan energi. Media ini mengandung indikator *bromthymol blue* (BTB). Penggunaan sitrat oleh bakteri melibatkan enzim citratase yang akan memecah sitrat menjadi oxaloasetat dan acetat, kemudian dari oxaloasetat dipecah menjadi piruvat dan karbon dioksida yang bersifat basa. Hasil positif

menunjukkan perubahan warna media dari hijau ke biru.

13. Media Urea



Media Urea merupakan media padat miring berwarna jingga yang berfungsi untuk mengetahui apakah bakteri memiliki enzim urease yang dapat mengubah urea menjadi amoniak. Penguraian urea menjadi amoniak menyebabkan pH media menjadi basa, menyebabkan indikator *phenol red* bereaksi mengubah warna media dari jingga menjadi merah muda.

14. Media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)



Media TSIA merupakan media padat miring yang berfungsi mengetahui apakah bakteri dapat memfermentasikan gula-gula yang terkandung di dalam media. Seperti namanya, media TSIA memiliki 3 (tiga) jenis gula, yaitu Glukosa, Laktosa, dan Sukrosa. TSIA juga mengandung indikator *phenol red* sebagai tanda terjadinya fermentasi gula-gula. Fermentasi positif menyebabkan media berubah warna dari merah ke kuning. Selain itu, TSIA juga mengandung FeSO_4 yang akan bereaksi dengan H_2S untuk memperlihatkan pembentukan FeS (endapan hitam).

15. Media LIA (*Lysine Iron Agar*)



Media LIA merupakan media padat miring yang berfungsi untuk mengetahui apakah bakteri dapat memecah karbohidrat spesifik (Glukosa) dengan atau tanpa menghasilkan gas. LIA mengandung Glukosa, Amino Lisin, dan *Bromcreasol Purple* (BCP) sebagai pH indikator. LIA digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang dapat mendeaminasi asam amino lisin. Dekarboksilasi lisin (anaerobik) terjadi di ujung (*butt*) media yang apabila bakteri memiliki kemampuan mendeaminasi lisin akan terbentuk produk berupa amin cadaverin yang bersifat basa (alkali) bereaksi dengan indikator BCP menghasilkan warna ungu pada media. Sedangkan, deaminasi lisin (aerobik) terjadi di lereng (*slant*) media yang apabila bakteri memiliki kemampuan mendeaminasi lisin, maka produk yang dihasilkan berupa amoniak akan bereaksi dengan ammonium sitrat besi untuk menghasilkan warna merah gelap pada bagian lereng media. Interpretasi untuk LIA adalah : V/V atau K/K (Violet/Violet atau Alkali/Alkali), V/K atau K/A (Violet/Kuning atau Alkali/Acidi), M/K atau R/K (Merah/Kuning atau Red/Alkali), dan ada atau tidaknya sulfida.

16. Phenylalanine Deaminase Media (PAD)



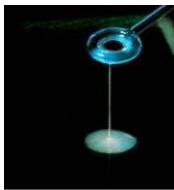
Media PAD merupakan media padat miring yang digunakan untuk mengetahui apakah bakteri dapat memproduksi enzim deaminase yang mengubah gugus amina dari asam amino phenylalanine menjadi amoniak. Pada reaksi ini, asam phenylpyruvic juga diproduksi. Setelah media PAD diinkubasi, ditambahkan reagen Ferri Chlorida (FeCl_3) 10%, apabila bakteri menghasilkan asam phenylpyruvic, maka koloni akan berwarna hijau tua.

17. Uji Oksidase



Uji ini merupakan pengujian untuk mengetahui apakah suatu bakteri memiliki enzim sitokrom oksidase. Uji oksidase digunakan untuk membedakan anggota genus *Neisseria sp.* dan *Pseudomonas sp.* (oksidase positif) dengan keluarga Enterobacteriaceae (oksidase negatif). Cara pengujian dimulai dengan pengambilan koloni terduga menggunakan ose steril, kemudian diletakkan di atas kertas saring yang sudah dilandasi *object glass*. Tetesi dengan reagen *Tetrametyl paraphenylenediamine dihydrochloride*. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna permukaan koloni menjadi ungu kehitaman. Selain pengujian dengan *Tetrametyl paraphenylenediamine dihydrochloride*, pengujian menggunakan kertas oksidase juga telah tersedia di pasaran. Pengujian dengan kertas oksidase dengan cara meletakkan satu koloni di atas kertas tersebut dan dibaca kurang dari 10 detik, hasil positif menunjukkan koloni berwarna biru/ungu kehitaman.

18. Uji String



Uji String memiliki nama lain *Entero test* atau uji tali merupakan uji khusus untuk mengetahui spesies *Vibrio cholerae* dengan melihat kekentalan koloni setelah direaksikan dengan garam empedu (*Natrium Deoxycholate* 0,5%). *Natrium Deoxycholate* melisiskan sel bakteri menyebabkan DNA dari sel keluar dan menjadi kental (mukoid). Uji string dapat dilakukan di atas *object glass*. Hasil uji string positif terdapat pada *V. cholerae* dan negatif pada *Aeromonas sp.* dan spesies *Vibrio* lain.

BAB X
ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIF *Escherichia coli*

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif *Escherichia coli*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : darah, feses, urin, pus, secret uretra, sputum, secret vagina, makanan, minuman, dan air lingkungan.
2. Media MCA, EA, atau Chromogen.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Penanaman pada media EA (*Endo Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.

- i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- 2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.
 - d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
 - f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

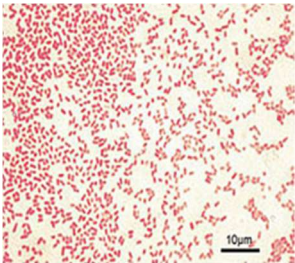

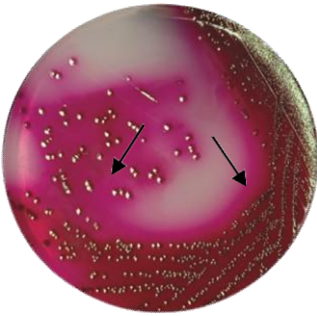
HARI III

1. Mengamati hasil dari media EA.
2. Mengamati hasil dari media biokimia.
3. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Escherichia
Spesies	<i>Escherichia coli</i>

Hasil Pengamatan *Escherichia coli*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang pendek/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Merah muda Warna Media : Merah muda Ukuran : 2 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Fermenter Laktosa	Karakteristik koloni <i>E. coli</i> di media MCA adalah berwarna merah muda dengan endapan garam empedu di bawah koloni/goresan (panah hitam).
Media EA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Merah metalik Warna Media : Ungu kemerahan Ukuran : 2 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Fermenter Laktosa	Karakteristik koloni <i>E. coli</i> di media EA adalah koloni berwarna merah metalik di seluruh zona gores dengan endapan garam empedu di bawah koloni/goresan (panah hitam). Warna media berubah menjadi ungu kemerahan.
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA	a) (+), gas (+) b) (+) c) (+) d) (+) e) (+) f) Sulfida (-), Indol (+), Motil (+) g) (+) h) (-) i) A/A, gas (+), dan sulfida (-) j) (-) k) (-) l) V/V atau K/K dan sulfida (-)	Kata kunci uji media biokimia <i>E. coli</i> adalah (+)(+)(-)(-)(-) untuk Indol, MR, VP, Citrate, dan Urea.

BAB XI
ISOLASI & IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIF
Klebsiella pneumoniae

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif *Escherichia coli*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : feses, urin, secret uretra, sputum, secret hidung, makanan, minuman, dan air lingkungan.
2. Media MCA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Penanaman pada media EA (*Endo Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.

- h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
- i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- 2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.
 - d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
 - f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

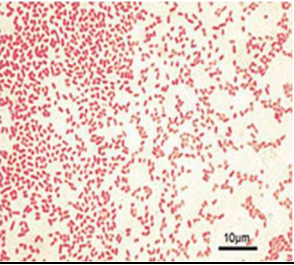
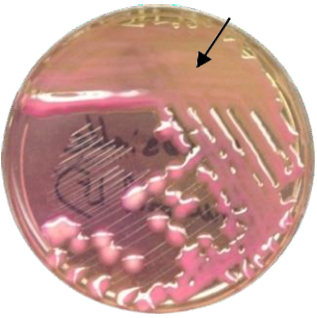

HARI III

1. Mengamati hasil dari media EA.
2. Mengamati hasil dari media biokimia.
3. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Klebsiella
Spesies	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Hasil Pengamatan *Klebsiella pneumoniae* :

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang pendek/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	Pengecatan kapsul (+) :
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Merah muda Warna Media : Merah muda sebagian Ukuran : 2-3 mm Tepian : Rata/tidak rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek basah Sifat : Fermenter Laktosa	Koloni <i>K. pneumoniae</i> di media MCA adalah berwarna merah muda dengan koloni yang mukoid/berlendir. Tidak tampak endapan garam empedu. Zona garis yang lebih rapat biasanya berwarna coklat (panah hitam).
Media EA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Merah metalik sebagian Warna Media : Ungu kemerahan Ukuran : 2-3 mm Tepian : Rata/tidak rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek basah Sifat : Fermenter Laktosa	Karakteristik koloni <i>K. pneumoniae</i> di media EA adalah koloni berlendir dan berwarna merah metalik di sebagian zona gores (panah hitam). Merah metalik biasanya hanya di zona gores terakhir yang koloninya terpisah.
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA	a) (+), gas (-) b) (+) c) (+) d) (+) e) (+) f) Sulfida (-), Indol (-), Motil (-) g) (-) h) (+) i) A/A, gas (-), dan sulfida (-) j) (+) k) (+) l) V/V atau K/K dan sulfida (-)	Kata kunci uji media biokimia <i>K. pneumoniae</i> adalah (-)(-)(+)(+)(+) untuk Indol, MR, VP, Citrate, dan Urea.

BAB XII
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI GRAM NEGATIF
Klebsiella aerogenes

- A. Capaian Pembelajaran
Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Klebsiella*
- B. Alat dan bahan :
1. Spesimen : darah, feses, urin, pus, sputum, makanan, minuman, dan air lingkungan.
 2. Media MCA.
 3. Cat Gram A,B,C,D.
 4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
 5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.
- C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Penanaman pada media EA (*Endo Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.
 - d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
 - f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

HARI III

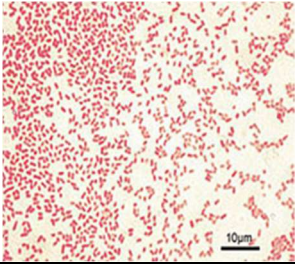


1. Mengamati hasil dari media EA.
2. Mengamati hasil dari media biokimia.
3. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Klebsiella
Spesies	<i>Klebsiella aerogenes</i>

Catatan : *Klebsiella aerogenes* sebelumnya bernama *Enterobacter aerogenes*. Perubahan nama genus ini didasarkan pada studi filogenetik bahwa *E. aerogenes* lebih dekat kekerabatannya dengan genus *Klebsiella* dibanding *Enterobacter* itu sendiri.

Hasil Pengamatan *Klebsiella aerogenes*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang pendek/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Merah muda Warna Media : Merah muda sebagian Ukuran : 1-2 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek basah Sifat : Fermenter Laktosa	Koloni <i>K. aerogenes</i> di media MCA adalah berwarna merah muda dengan koloni yang mukoid/berlendir mirip dengan <i>K. pneumoniae</i> namun berukuran lebih kecil. Tidak tampak endapan garam empedu. Zona garis yang lebih rapat biasanya berwarna coklat (garis hitam).
Media EA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Merah metalik sebagian Warna Media : Ungu kemerahan Ukuran : 1-2 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek basah Sifat : Fermenter Laktosa	Karakteristik koloni <i>K. aerogenes</i> di media EA adalah koloni berlendir dan berwarna merah metalik di sebagian zona gores (panah hitam). Merah metalik biasanya hanya di zona gores terakhir yang koloninya terpisah.
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA	a) (+), gas (-) b) (+) c) (+) d) (+) e) (+) f) Sulfida (-), Indol (-), Motil (+) g) (-) h) (+) i) A/A, gas (-), dan sulfida (-) j) (+) k) (-) l) V/V atau K/K dan sulfida (-)	Kata kunci uji media biokimia <i>K. aerogenes</i> adalah (-)(-)(+)(+)(-) untuk Indol, MR, VP, Citrate, dan Urea.

BAB XIII

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Serratia marcescens*

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan isolasi dan identifikasi bakteri *Serratia marcescens*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : darah, feses, urin, pus, sputum, makanan, minuman, dan air lingkungan.
2. Media MCA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Penanaman pada media EA (*Endo Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.

- c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.
- d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
- f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

HARI III

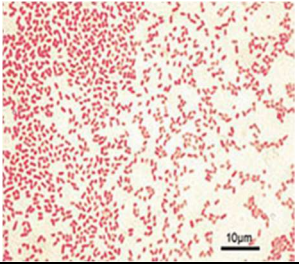


1. Mengamati hasil dari media EA.
2. Mengamati hasil dari media biokimia.
3. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Serratia
Spesies	<i>Serratia marcescens</i>

Catatan : Pigmen merah yang dihasilkan oleh *S. marcescens* bernama Prodigiosin. Pigmen ini dapat muncul atau tidak tergantung pada suhu inkubasi. Beberapa percobaan menghasilkan koloni berwarna merah muda jika diinkubasi pada suhu 37°C, sedangkan pada suhu inkubasi berkisar 28-30°C menghasilkan pigmen merah.

Hasil Pengamatan *Serratia marcescens*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Merah terang Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 0,5-1 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa Ferm. Laktosa Lambat	Karakteristik koloni <i>S. marcescens</i> di media MCA dengan suhu inkubasi di bawah 30°C adalah berwarna merah terang dengan media berwarna coklat. Warna media sama dengan bakteri Non Fermenter Laktosa.
Media EA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Putih kemerahan Warna Media : Putih kemerahan Ukuran : 0,5-1 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa Ferm. Laktosa Lambat	Karakteristik koloni <i>S. marcescens</i> di media EA adalah koloni berwarna putih kemerahan, seperti bakteri Non Fermenter Laktosa dengan warna media tidak berubah.
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA	a) (+), gas (-) b) (-) c) (+) d) (+) e) (+) f) Sulfida (-), Indol (-), Motil (+) g) (-) h) (+) i) K/A, gas (-), dan sulfida (-) j) (+) k) (-) l) V/V atau K/K dan sulfida (-)	Kata kunci uji media biokimia <i>S. marcescens</i> sama dengan <i>K. aerogenes</i> adalah (-)(-)(+)(+)(-) untuk Indol, MR, VP, Citrate, dan Urea.

Bacaan lebih lanjut : BAKTERIOLOGI ART.007:2020. Mengenai Koloni Bakteri Merah *Serratia marcescens*

BAB XIV

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Salmonella enterica* Typhi

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella enterica* Typhi

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : darah, feses, urin, makanan dan minuman.
2. Media MCA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Oksidase
 - a) Ambil koloni dari media MCA dengan ose steril.
 - b) Letakkan di atas kertas saring steril dan *object glass*.
 - c) Tetesi koloni dengan reagen *Tetramethyl paraphenylene*.
 - d) Amati perubahan warna koloni, apabila koloni berubah warna menjadi ungu kehitaman, maka uji oksidase positif.
2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada

- media SIM.
- d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
 - f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

HARI III

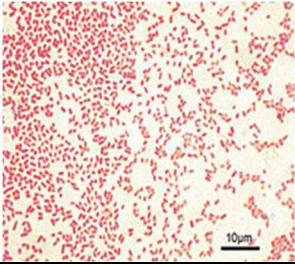

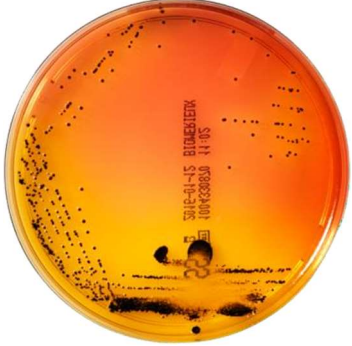
1. Mengamati hasil dari media biokimia.
2. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Salmonella
Spesies	<i>Salmonella enterica</i>
Sub Spesies	<i>Salmonella enterica enterica</i>
Serovar	<i>Salmonella enterica enterica ser. Typhi</i>

Catatan : Nama bakteri dapat disingkat sebagai *Salmonella enterica* Typhi atau *Salmonella* Typhi. Genus dan spesies ditulis miring, sedangkan serovar ditulis tanpa miring dengan huruf awal besar.

Hasil Pengamatan *Salmonella enterica* Typhi :

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang langsing/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Coklat transparan Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 0,5-2 mm Tepian : Rata/tidak rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa	<p><i>Salmonella enterica</i> Typhi pada media selektif dan <i>differential</i> Salmonella Shigella Agar (SSA). Koloni akan tampak seperti mata kelinci/<i>black center</i>.</p> 
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA m) PAD	a) (+), gas (-) b) (-) c) (-) d) (+) e) (+) f) Sulfida (+), Indol (-), Motil (+) g) (+) h) (-) i) K/A, gas (-), dan sulfida (+) j) (-) k) (-) l) V/V atau K/K dan sulfida (+) m) (-)	Cara membedakan serovar Typhi dengan Paratyphi B, bisa dilihat dari produksi sulfida yang lebih sedikit pada Typhi. Biasanya sulfida pada Typhi hanya muncul dibekas tusukan di media SIM, TSIA, dan LIA.

Bacaan lebih lanjut : BAKTERIOLOGI ART.009:2020. *Perbedaan Serotipe, Strain, Genotipe, dan Fenotipe pada Bakteri*
 BAKTERIOLOGI ART.013:2020. *Salmonella Shigella Agar*

BAB XV

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Salmonella enterica* Paratyphi A

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella enterica* Paratyphi A

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : darah, feses, urin, makanan dan minuman.
2. Media MCA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Oksidase
 - a) Ambil koloni dari media MCA dengan ose steril.
 - b) Letakkan di atas kertas saring steril dan *object glass*.
 - c) Tetesi koloni dengan reagen *Tetramethyl paraphenylene*.
 - d) Amati perubahan warna koloni, apabila koloni berubah warna menjadi ungu kehitaman, maka uji oksidase positif.
2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung

ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.

- d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
- f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

HARI III

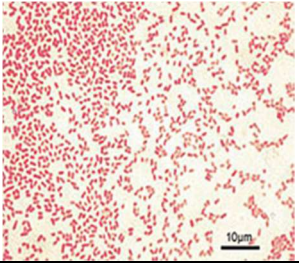

- 1. Mengamati hasil dari media biokimia.
- 2. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Salmonella
Spesies	<i>Salmonella enterica</i>
Sub Spesies	<i>Salmonella enterica enterica</i>
Serovar	<i>Salmonella enterica enterica ser. Paratyphi A</i>

Catatan : Nama bakteri dapat disingkat sebagai *Salmonella enterica* Paratyphi A atau *Salmonella* Paratyphi A. Genus dan spesies ditulis miring, sedangkan serovar ditulis tanpa miring dengan huruf awal besar.

Hasil Pengamatan *Salmonella enterica* Paratyphi A:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang langsing/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Coklat transparan Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 0,5-2 mm Tepian : Rata/tidak rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa	
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA m) PAD	a) (+), gas (+) b) (-) c) (-) d) (+) e) (+) f) Sulfida (-), Indol (-), Motil (+) g) (+) h) (-) i) K/A, gas (+), dan sulfida (-) j) (-) k) (-) l) V/V atau K/K dan sulfida (-) m) (-)	Dari ketiga serovar <i>S. enterica</i> , hanya serovar Paratyphi A yang tidak menghasilkan sulfida.

Bacaan lebih lanjut : BAKTERIOLOGI ART.009:2020. *Perbedaan Serotipe, Strain, Genotipe, dan Fenotipe pada Bakteri*
 BAKTERIOLOGI ART.013:2020. *Salmonella Shigella Agar*

BAB XVI

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Salmonella enterica* Paratyphi B

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella enterica* Paratyphi B

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : darah, feses, urin, makanan dan minuman.
2. Media MCA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Oksidase
 - a) Ambil koloni dari media MCA dengan ose steril.
 - b) Letakkan di atas kertas saring steril dan *object glass*.
 - c) Tetesi koloni dengan reagen *Tetramethyl paraphenylene*.
 - d) Amati perubahan warna koloni, apabila koloni berubah warna menjadi ungu kehitaman, maka uji oksidase positif.
2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung

ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.

- d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
- f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

HARI III

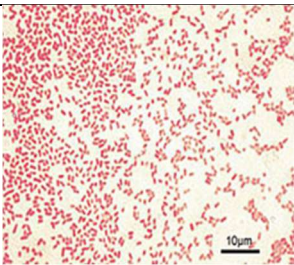

- 1. Mengamati hasil dari media biokimia.
- 2. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Salmonella
Spesies	<i>Salmonella enterica</i>
Sub Spesies	<i>Salmonella enterica enterica</i>
Serovar	<i>Salmonella enterica enterica ser. Paratyphi B</i>

Catatan : Nama bakteri dapat disingkat sebagai *Salmonella enterica* Paratyphi B atau *Salmonella* Paratyphi B. Genus dan spesies ditulis miring, sedangkan serovar ditulis tanpa miring dengan huruf awal besar.

Hasil Pengamatan *Salmonella enterica* Paratyphi B :

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang langsing/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Coklat transparan Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 0,5-2 mm Tepian : Rata/tidak rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa	
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA m) PAD	a) (+), gas (+) b) (-) c) (-) d) (+) e) (+) f) Sulfida (++), Indol (-), Motil (+) g) (+) h) (-) i) K/A, gas (+), dan sulfida (++) j) (-) k) (-) l) V/V atau K/K dan sulfida (++) m) (-)	Dari ketiga serovar <i>S. enterica</i> , hanya serovar Paratyphi B yang menghasilkan sulfida dalam jumlah banyak, biasanya sampai menutupi <i>butt</i> dari media TSIA dan LIA.

Bacaan lebih lanjut : BAKTERIOLOGI ART.009:2020. *Perbedaan Serotipe, Strain, Genotipe, dan Fenotipe pada Bakteri*
 BAKTERIOLOGI ART.013:2020. *Salmonella Shigella Agar*

BAB XVII

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Shigella flexneri*

- A. Capaian Pembelajaran
Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Shigella flexneri*
- B. Alat dan bahan :
1. Spesimen : feses, *rectal swab*, makanan dan minuman.
 2. Media MCA.
 3. Cat Gram A,B,C,D.
 4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
 5. Ose bulat, ose jarum, lampu spiritus, *object* dan *deck glass*.
- C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Oksidase
 - a) Ambil koloni dari media MCA dengan ose steril.
 - b) Letakkan di atas kertas saring steril dan *object glass*.
 - c) Tetesi koloni dengan reagen *Tetramethyl paraphenylene*.
 - d) Amati perubahan warna koloni, apabila koloni berubah warna menjadi ungu kehitaman, maka uji oksidase positif.
2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada

media SIM.

- d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
- f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

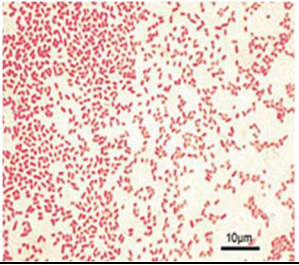

HARI III

- 1. Mengamati hasil dari media biokimia.
- 2. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Shigella
Spesies	<i>Shigella flexneri</i>

Hasil Pengamatan *Shigella flexneri*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang langsing/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Coklat transparan Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 2 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa	
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA m) PAD	a) (+), gas (-) b) (-) c) (-) d) (+/-) e) (+) f) Sulfida (-), Indol (+), Motil (-) g) (+) h) (-) i) K/A, gas (-), dan sulfida (-) j) (-) k) (-) l) V/K atau K/A dan sulfida (-) m) (-)	

BAB XVIII

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Shigella sonnei*

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Shigella sonnei*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : feses, *rectal swab*, makanan dan minuman.
2. Media MCA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spiritus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Oksidase
 - a) Ambil koloni dari media MCA dengan ose steril.
 - b) Letakkan di atas kertas saring steril dan *object glass*.
 - c) Tetesi koloni dengan reagen *Tetramethyl paraphenylene*.
 - d) Amati perubahan warna koloni, apabila koloni berubah warna menjadi ungu kehitaman, maka uji oksidase positif.
2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada

- media SIM.
- d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
 - f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

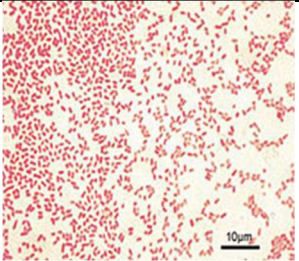

HARI III

1. Mengamati hasil dari media biokimia.
2. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Shigella
Spesies	<i>Shigella sonnei</i>

Hasil Pengamatan *Shigella sonnei*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang langsing/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Coklat transparan Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 2 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa	
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA m) PAD	a) (+), gas (-) b) (-) c) (-) d) (+/-) e) (-) f) Sulfida (-), Indol (-), Motil (-) g) (+) h) (-) i) K/A, gas (-), dan sulfida (-) j) (-) k) (-) l) V/K atau K/A dan sulfida (-) m) (-)	

BAB XIX

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Proteus mirabilis*

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Proteus mirabilis*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : feses, darah, urine, pus, makanan dan minuman.
2. Media MCA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Oksidase
 - a) Ambil koloni dari media MCA dengan ose steril.
 - b) Letakkan di atas kertas saring steril dan *object glass*.
 - c) Tetesi koloni dengan reagen *Tetramethyl paraphenylene*.
 - d) Amati perubahan warna koloni, apabila koloni berubah warna menjadi ungu kehitaman, maka uji oksidase positif.
2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung

ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.

- d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
- f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- g) Tanam pada media Citrate, PAD, dan LIA.

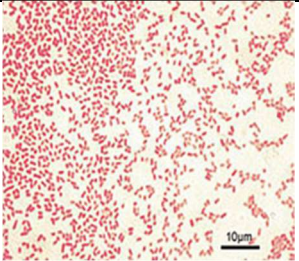


HARI III

- 1. Mengamati hasil dari media biokimia.
- 2. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Proteus
Spesies	<i>Proteus mirabilis</i>

Hasil Pengamatan *Proteus mirabilis*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang langsing/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Coklat transparan Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 1 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa	<p><i>Proteus sp.</i> menunjukkan koloni <i>swarming</i> di media BAP. Cara membentuk koloni seperti ini dengan inokulasi bakteri di tengah media dan diinkubasi selama 24-48 jam.</p>  <p>Koloni <i>P. mirabilis</i> terlihat lebih kecil-kecil di media MCA dibanding <i>P. vulgaris</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, dan <i>S. enterica</i>.</p>
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA m) PAD	a) (+), gas (+) b) (-) c) (-) d) (-) e) (-) f) Sulfida (+), Indol (-), Motil (+) g) (+) h) (-) i) K/A, gas (+), dan sulfida (+) j) (+/-) k) (+) l) M/K atau R/A dan sulfida (+) m)(+)	<p>Media PAD merupakan media kunci untuk mendeteksi <i>P. mirabilis</i> dan <i>P. vulgaris</i> di mana hasilnya adalah positif (koloni hijau).</p> <p><i>Proteus sp.</i> mungkin mampu mendeaminasi <i>lysine</i> pada lereng media LIA, dengan interpretasi : M/K (Merah/Kuning) atau R/A (Red/Acidi).</p>

BAB XX

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Proteus vulgaris*

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Proteus vulgaris*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : feses, darah, urine, pus, makanan dan minuman.
2. Media MCA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spiritus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Oksidase
 - a) Ambil koloni dari media MCA dengan ose steril.
 - b) Letakkan di atas kertas saring steril dan *object glass*.
 - c) Tetesi koloni dengan reagen *Tetramethyl paraphenylene*.
 - d) Amati perubahan warna koloni, apabila koloni berubah warna menjadi ungu kehitaman, maka uji oksidase positif.
2. Penanaman Media Biokimia
 - a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung

ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.

- d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
- f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
- g) Tanam pada media Citrate, PAD, dan LIA.

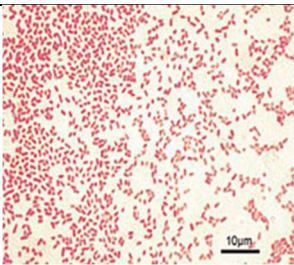

HARI III

- 1. Mengamati hasil dari media biokimia.
- 2. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacterales
Famili	Enterobacteriaceae
Genus	Proteus
Spesies	<i>Proteus vulgaris</i>

Hasil Pengamatan *Proteus vulgaris*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang langsing/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Coklat transparan Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 2-3 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa	Bentuk koloni <i>P. vulgaris</i> lebih besar dibanding <i>P. mirabilis</i> di media MCA.
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA m) PAD	a) (+), gas (+) b) (-) c) (-) d) (+/-) e) (+) f) Sulfida (+), Indol (+), Motil (+) g) (-) h) (+) i) K/A, gas (+), dan sulfida (+) j) (+/-) k) (+) l) M/K atau R/A dan sulfida (+) m)(+)	Media PAD merupakan media kunci identifikasi <i>P. mirabilis</i> dan <i>P. vulgaris</i> di mana hasilnya adalah positif (koloni hijau).

Bacaan lebih lanjut : BAKTERIOLOGI ART.016:2020. *Motilitas Swarming pada Proteus mirabilis*

BAB XXI

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Pseudomonas aeruginosa*

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : sputum, secret telinga, feses, darah, urine, pus, makanan dan minuman.
2. Media MCA.
3. Cat Gram A,B,C,D.
4. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
5. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Lakukan Pengecatan Gram
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari sampel yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Uji Oksidase
 - a) Ambil koloni dari media MCA dengan ose steril.
 - b) Letakkan di atas kertas saring steril dan *object glass*.
 - c) Tetesi koloni dengan reagen *Tetramethyl paraphenylene*.
 - d) Amati perubahan warna koloni, apabila koloni berubah warna menjadi ungu kehitaman, maka uji oksidase positif.
2. Penanaman media Cetrimide Agar
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.

- d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
3. Penanaman Media Biokimia
- a) Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media MCA.
 - c) Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.
 - d) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - e) Tanam pada media Urea dan TSIA.
 - f) Ambil kembali bakteri pada media MCA.
 - g) Tanam pada media Citrate dan LIA.

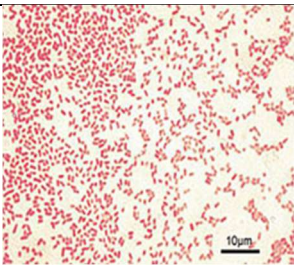


HARI III

1. Mengamati hasil dari media biokimia.
2. Pengamatan pada media Cetrimide Agar.
3. Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Pseudomonadales
Famili	Pseudomonadaceae
Genus	Pseudomonas
Spesies	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Hasil Pengamatan *Pseudomonas aeruginosa*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang langsing/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Coklat transparan Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 2-3 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa	Karakteristik koloni <i>P. aeruginosa</i> di media MCA adalah apabila diambil menggunakan ose akan lengket menyerupai keju mozzarella.
Media Cetrimide	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Hijau transparan Warna Media : Putih/kuning jernih Ukuran : 0,5-1 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Memunculkan pigmen	Media Cetrimide merupakan media selektif untuk menumbuhkan <i>P. aeruginosa</i> . Gambar disamping merupakan sediaan yang diinokulasi secara otomatis dengan alat khusus. <i>P. aeruginosa</i> memiliki beberapa pigmen, yaitu pigmen hijau (pioverdin), pigmen biru (piosianin), pigmen merah (piorubin), dan pigmen hitam (piomelanin).
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U) c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA	a) (-), gas (-) b) (-) c) (-) d) (-) e) (-) f) Sulfida (-), Indol (-), Motil (+) g) (-) h) (-) i) K/K, gas (-), dan sulfida (-)	Media Gula-gula, Citrate, Urea, dan TSIA yang semuanya negatif menjadi kunci identifikasi <i>P. aeruginosa</i> .

j) Citrate k) Urea l) LIA m) PAD	j) (+) k) (-) l) V/V atau K/K dan sulfida (-) m) (-)	
Uji Oksidase	Positif (+)	Uji Oksidase juga merupakan kunci identifikasi <i>P. aeruginosa</i> , baik menggunakan reagen <i>Tetramethyl paraphenylene</i> dan kertas oksidase menghasilkan koloni berwarna biru/ungu kehitaman.

Bacaan lebih lanjut : BAKTERIOLOGI ART.003:2020. *Rahasia Pseudomonas aeruginosa Tahan Terhadap Banyak Antibiotik*
BAKTERIOLOGI ART.014:2020. *Cetrimide Agar*

BAB XXII

Identifikasi Bakteri Gram Negatif *Vibrio cholerae*

A. Capaian Pembelajaran

Mahasiswa terampil dalam melakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri *Vibrio cholerae*

B. Alat dan bahan :

1. Spesimen : feses, muntahan, *rectal swab*, makanan (produk laut, seperti udang dan kerang) dan minuman.
2. Media MCA, TCBS, media transport Cary Blair/Amies.
3. Alkaline Peptone Water pH 8,6.
4. Cat Gram A,B,C,D.
5. Reagen Kovack, KOH 40%, α -naphthol, Methyl Red, *Tetramethyl paraphenylene*.
6. Ose bulat, ose jarum, lampu spirtus, *object* dan *deck glass*.

C. Prosedur :

HARI I

1. Penanaman pada media APW pH 8,6 dan inkubasi selama 6-8 jam pada suhu 37°C.
 - a) Timbang sampel sebanyak 1 gram dipotong-potong (apabila sampel berasal dari makanan laut) secara aseptis.
 - b) Masukkan sampel ke dalam media APW pH 8,6.
 - c) Inkubasi selama 6-8 jam pada suhu 37°C.

HARI II

1. Lakukan Pengecatan Gram.
2. Penanaman media MCA (*Mac Conkey Agar*)/TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose*)
 - a) Panaskan ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan.
 - b) Ambil bakteri dari media APW yang sudah disiapkan.
 - c) Goreskan pada media plate secara merata pada zona 1, lalu panaskan kembali ose bulat.
 - d) Setelah ose dingin, goreskan ose dari zona 1 ke zona 2 membentuk garis-garis.
 - e) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - f) Goreskan ose dari zona 2 ke zona 3 membentuk garis-garis.
 - g) Panaskan kembali ose, lalu tunggu hingga dingin.
 - h) Goreskan ose dari zona 3 ke zona 4 membentuk garis-garis.
 - i) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

HARI III

1. Uji Oksidase
 - a) Ambil koloni dari media MCA/TCBS dengan ose steril.
 - b) Letakkan di atas kertas saring steril dan *object glass*.
 - c) Tetesi koloni dengan reagen *Tetramethyl paraphenylene*.

- d) Amati perubahan warna koloni, apabila koloni berubah warna menjadi ungu kehitaman, maka uji oksidase positif.
2. Penanaman Media Biokimia
- Panaskan ose jarum hingga merah membara, kemudian dinginkan.
 - Ambil bakteri dari media MCA/TCBS.
 - Tanam terlebih dahulu pada media cair, yaitu media Glukosa, Laktosa, Maltosa, Mannosa, Sukrosa, MR, VP, dengan cara media dimiringkan kemudian ujung ose ditempelkan pada dinding tabung lalu dikocok, kemudian tusukkan pada media SIM.
 - Ambil kembali bakteri pada media MCA/TCBS.
 - Tanam pada media Urea dan TSIA.
 - Ambil kembali bakteri pada media MCA/TCBS.
 - Tanam pada media Citrate dan LIA.



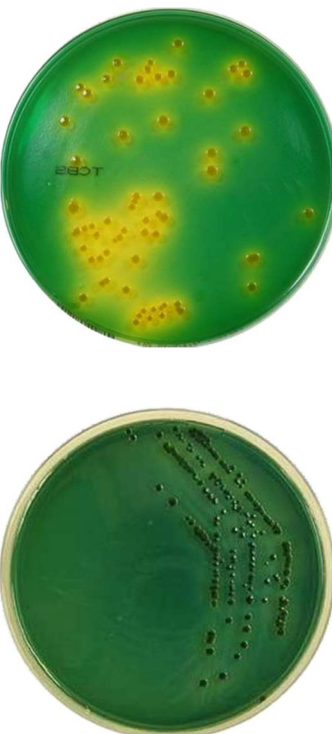

HARI IV


- Mengamati hasil dari media biokimia.
- Mencocokkan hasil dengan tabel identifikasi yang tersedia.

KLASIFIKASI

Super Kerajaan	Prokariota
Kerajaan	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gammaproteobacteria
Ordo	Vibrionales
Famili	Vibrionaceae
Genus	Vibrio
Spesies	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>

Hasil Pengamatan *Vibrio cholerae*:

Pengecatan Gram	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Batang bengkok/ <i>bacil</i> Warna Sel : Merah Susunan : Menyebar Ukuran : Gram Negatif	
Media MCA	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Coklat transparan Warna Media : Coklat transparan Ukuran : 2-3 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Non Fermenter Laktosa	Media MCA sebenarnya media yang tidak begitu selektif untuk <i>V. cholerae</i> . Penanaman lebih selektif bisa langsung dari APW ke media TCBS.
Media TCBS	Interpretasi	Keterangan
	Bentuk : Bulat Warna Koloni : Kuning Warna Media : Hijau Ukuran : 1-2 mm Tepian : Rata Elevasi : Cembung Konsistensi : Lembek Sifat : Fermenter Sukrosa	Media TCBS merupakan media selektif untuk menumbuhkan <i>Vibrio sp.</i> Pada koloni <i>V. cholerae</i> menunjukkan warna kuning, sedangkan <i>V. parahaemolyticus</i> menunjukkan warna hijau. <i>V. cholerae</i> pada media BAP tampak Beta Hemolisis. 
Media Biokimia	Interpretasi	Keterangan
a) Glukosa (P) b) Laktosa (U)	a) (+), gas (-) b) (+/-)	

c) Sukrosa (B) d) Maltosa (M) e) Mannosa (H) f) SIM g) MR h) VP i) TSIA j) Citrate k) Urea l) LIA m) PAD	c) (+) d) (+) e) (+) f) Sulfida (-), Indol (+), Motil (+) g) (-) h) (+/-) i) K/A, gas (-), dan sulfida (-) j) (+) k) (-) l) V/V atau K/K dan sulfida (-) m) (-)	
	Positif (+)	Uji Oksidase juga merupakan kunci identifikasi <i>V. cholerae</i> , baik menggunakan reagen <i>Tetramethyl paraphenylene</i> dan kertas oksidase menghasilkan koloni berwarna biru/ungu kehitaman.
<i>String Test</i>	Positive (+)	<i>String test</i> atau tes tali merupakan tes yang bertujuan untuk menguji kekentalan koloni bakteri setelah penambahan <i>Natrium Deoxycholate</i> 0,5% ke dalam koloni bakteri di atas <i>object glass</i> . Hasil positif menunjukkan tali mukoid saat ose bulat diangkat perlahan dari suspensi tersebut. <i>V. cholerae</i> menunjukkan hasil positif dan <i>Aeromonas sp.</i> negatif.

Bacaan lebih lanjut : BAKTERIOLOGI ART.017:2020. *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) Agar*
BAKTERIOLOGI ART.018:2020. *Sejarah dan Isolasi Vibrio cholerae dari Sampel Feses*

LATIHAN SOAL

1. Berikut merupakan spesies dari bakteri *Streptococcus sp.* (Beta Hemolisis), kecuali....
 - a. *Streptococcus pyogenes*
 - b. *Streptococcus agalactiae*
 - c. *Streptococcus equisimilis*
 - d. *Streptococcus pneumoniae*
2. Apabila kita ingin melihat kemampuan bakteri dalam menghemolisis darah, media apa yang digunakan?
 - a. MCA
 - b. SSA
 - c. BAP
 - d. MSA
3. Berikut merupakan uraian yang benar untuk media MCA, kecuali....
 - a. Memiliki kepanjangan Mac Conkey Agar
 - b. Mengandung indikator netral red yang menjadi merah muda saat bakteri dapat memfermentasi laktosa
 - c. Media universal untuk semua jenis bakteri
 - d. Media selektif dan *differential* untuk bakteri Gram negatif
4. Apa komposisi cat Gram A yang benar?
 - a. Basic Fuschin, alkohol, aquadest
 - b. Kristal violet, phenol kristal, alkohol, dan aquadest
 - c. Alkohol dan aseton
 - d. Kristal violet, basic fuschin, alkohol, dan aquadest
5. Apa komposisi utama cat Gram D?
 - a. Alkohol
 - b. Methylene Blue
 - c. Phenol Red
 - d. Safranin
6. Pada saat melakukan pengecatan Gram, setelah cat Gram A dan B, kenapa harus dilunturkan dengan cat Gram C terlebih dahulu sebelum diberi cat Gram D?
 - a. Mematikan bakteri
 - b. Menghilangkan warna sebelumnya agar bisa dimasuki warna selanjutnya
 - c. Memberi warna bakteri
 - d. Memperkuat dan mempertahankan warna sebelumnya
7. Manakah dari bakteri di bawah ini yang termasuk Gram negatif?
 - a. *Staphylococcus epidermidis*
 - b. *Bacillus subtilis*
 - c. *Pseudomonas aeruginosa*
 - d. *Streptococcus mutans*
8. Media apa yang digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghasilkan sulfida/H₂S?
 - a. MRVP
 - b. Glukosa
 - c. SIM
 - d. Urea

9. Apa fungsi dari media Simmon's Citrate?
 - a. Mengetahui apakah bakteri dapat menghasilkan enzim urease
 - b. Mengetahui apakah bakteri dapat memfermentasi gula-gula
 - c. Mengetahui apakah bakteri dapat menggunakan citrate sebagai sumber karbon tunggal
 - d. Mengetahui apakah bakteri dapat menghasilkan cincin indol
10. Ada berapa jenis gula dalam media TSIA?
 - a. 1
 - b. 2
 - c. 3
 - d. 4
11. Bakteri dengan julukan *marine bacteria* adalah...
 - a. *Escherichia coli*
 - b. *Klebsiella pneumoniae*
 - c. *Salmonella Paratyphi B*
 - d. *Vibrio cholerae*
12. Bakteri yang tumbuh di media MCA dengan ciri khas seperti di bawah ini mengarah pada spesies....



- a. *Klebsiella pneumoniae*
 - b. *Serratia marcescens*
 - c. *Escherichia coli*
 - d. *Pseudomonas aeruginosa*
13. Apa nama pigmen hijau yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?
 - a. Piosianin
 - b. Piorubin
 - c. Piomelanin
 - d. Pioverdin
 14. Pada suhu inkubasi berapa pigmen merah *Serratia marcescens* dapat muncul?
 - a. 38°C
 - b. 37°C
 - c. <30°C
 - d. 40°C
 15. Apa yang menyebabkan media gula-gula berubah warna menjadi kuning setelah inokulasi bakteri dan diinkubasi?
 - a. Media mengalami kenaikan pH
 - b. Terjadi proses fermentasi dan penurunan pH
 - c. Indikator warna media rusak
 - d. Bakteri tidak dapat menggunakan gula sebagai energi

16. Apa nama media selektif untuk *Vibrio cholerae*?
- BAP
 - MSA
 - TCBS
 - Cetrimide Agar
17. Manakah penulisan nama ilmiah yang benar untuk bakteri *Salmonella sp.*?
- Salmonella Typhi*
 - Salmonella Typhi*
 - Salmonella typhi*
 - Salmonella typhi*
18. Reagen apa yang digunakan untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan indol?
- KOH 40%
 - Tetramethyl paraphenylene
 - Kovac's
 - Methyl Red
19. Apa hasil dari uji katalase menggunakan reagen Hidrogen Peroksida?
- CO₂ dan H₂O
 - O₂ dan H₂O
 - CO₂ dan O₂
 - O₂ dan H₂O₂
20. Manakah yang termasuk media universal di bawah ini?
- NA
 - TCBS
 - MCA
 - MSA
21. Seorang ATLM memeriksa sputum dari pasien untuk mengetahui jenis bakterinya. Setelah pengujian didapatkan hasil, sebagai berikut : MCA fermenter laktosa, mukoid, indol negatif, MR negatif, VP positif, citrate positif, dan urea positif. Bakteri apakah yang ada pada sputum tersebut?
- Escherichia coli*
 - Klebsiella aerogenes*
 - Klebsiella pneumoniae*
 - Serratia marcescens*
22. Bakteri apa yang memiliki karakteristik uji biokimia sebagai berikut : Gula-gula semuanya negatif, citrate positif, oksidase positif.
- Shigella flexneri*
 - Proteus mirabilis*
 - Proteus vulgaris*
 - Pseudomonas aeruginosa*
23. Seorang ATLM melakukan pemeriksaan sampel pus luka untuk mengetahui jenis bakterinya. Setelah sampel diuji dihasilkan, sebagai berikut :
- Koloni bakteri pada media BAP berwarna krem
 - Uji katalase positif
 - Uji CPT positif
 - MSA menjadi kuning
- Bakteri apa yang ada pada sampel pus tersebut?
- Streptococcus sp.* (Beta Hemolisis)

- b. *Staphylococcus aureus*
 - c. *Staphylococcus epidermidis*
 - d. *Escherichia coli*
24. Apabila kita ingin membedakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan *Staphylococcus saprophyticus*, media dan uji apa yang menjadi rujukan?
- a. MSA dan uji sensitivitas
 - b. BAP dan uji sensitivitas
 - c. SSA dan uji oksidase
 - d. BAP dan uji katalase
25. Bakteri dengan karakteristik koloni berwarna kuning di media TCBS adalah....
- a. *Pseudomonas aeruginosa*
 - b. *Proteus mirabilis*
 - c. *Vibrio parahaemolyticus*
 - d. *Vibrio cholera*
26. Apa hasil uji biokimia untuk *Escherichia coli*?
- a. Indol (+), MR (+), VP (-), Citrate (-), Urea (-), Gula-gula (+)
 - b. Indol (+), MR (+), VP (-), Citrate (-), Urea (+), Gula-gula (+)
 - c. Indol (-), MR (-), VP (+), Citrate (+), Urea (+), Gula-gula (+)
 - d. Indol (-), MR (-), VP (+), Citrate (+), Urea (-), Gula-gula (+)
27. Tentukan nama spesies bakteri dengan hasil uji, sebagai berikut :

No.	Media	Hasil
1	MCA	Non Fermenter Laktosa
2	SIM	S(+), I(-), M(+)
3	TSIA	K/A, S(+), Gas (-)
4	LIA	V/V, S(+), Gas (-)
5	Simmon's Citrate	(-)
6	PAD	(-)

- a. *Salmonella Typhi*
 - b. *Shigella flexneri*
 - c. *Shigella sonnei*
 - d. *Proteus mirabilis*
28. Apa karakteristik *Bacillus cereus* apabila ditumbuhkan di media MYPA?
- a. Koloni berwarna kuning
 - b. Koloni berwarna hijau
 - c. Koloni berwarna merah muda
 - d. Koloni berwarna coklat
29. Apa perbedaan mendasar *Proteus sp.* dengan *Salmonella sp.* pada uji biokimia?
- a. Non-fermenter laktosa
 - b. Menghasilkan sulfida
 - c. PAD positif pada *Proteus sp.* dan negatif pada *Salmonella sp.*
 - d. Koloni memiliki tepian tidak rata
30. Apa yang menyebabkan bakteri Gram positif tidak dapat tumbuh di media MCA dan EA?
- a. Mengandung kadar garam tinggi
 - b. Mengandung indikator netral red
 - c. Mengandung garam empedu
 - d. Mengandung laktosa

31. Manakah uji yang tepat untuk membedakan *Streptococcus sp.* dengan *Staphylococcus sp.* setelah ditumbuhkan di media BAP?
- Uji oksidase
 - Uji urease
 - Uji katalase
 - Uji CPT
32. Berapa persen komposisi darah yang ditambahkan dalam pembuatan media BAP?
- 2%
 - 3%
 - 5%
 - 10%
33. Berikut merupakan contoh bakteri fermenter laktosa, kecuali?
- Klebsiella pneumoniae*
 - Klebsiella aerogenes*
 - Escherichia coli*
 - Shigella flexneri*
34. Pada media SIM, kekeruhan di seluruh media dapat menunjukkan bahwa bakteri....
- Menghasilkan indol
 - Menghasilkan sulfida
 - Memfermentasi gula-gula
 - Dapat bergerak
35. Bagaimana cara melakukan pemisahan koloni bakteri pada suatu sampel ke dalam media cawan?
- Spread*
 - Pour*
 - Streak*
 - Rinse*
36. Apa nama indikator warna pada media gula-gula?
- Netral red
 - Phenol red
 - Methyl red
 - Brom Cresol Purple
37. Apa interpretasi media urea apabila bakteri memiliki enzim urease?
- Berubah warna menjadi biru
 - Berubah warna menjadi kuning
 - Berubah warna menjadi merah muda
 - Terdapat kekeruhan
38. Apa nama enzim yang dapat menguraikan Hidrogen Peroksida?
- Oksidase
 - Urease
 - Katalase
 - Phenylalanin Deaminase
39. Perhatikan hasil pemeriksaan bakteri berikut : Koloni putih kecil pada media BAP, uji katalase positif, media MSA berwarna merah muda, uji sensitivitas terhadap novobiocin >20 mm. Apa spesies bakteri yang tersebut?
- Staphylococcus aureus*

- b. *Streptococcus sp.* (Alpha Hemolysis)
 - c. *Staphylococcus epidermidis*
 - d. *Staphylococcus saprophyticus*
40. Media selektif apa yang dapat digunakan untuk identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?
- a. SSA
 - b. TCBS
 - c. Ceftrimide Agar
 - d. Gula-gula
41. Reagen apa yang digunakan pada *string test*?
- a. H₂O₂
 - b. FeCl₃
 - c. Natrium citrate
 - d. Natrium deoxycholate
42. Uji biokimia apa yang digunakan untuk membedakan *P. mirabilis* dengan *P. vulgaris*?
- a. Indol
 - b. Sulfida
 - c. Motilitas
 - d. Fermentasi gula-gula
43. Uji biokimia suatu bakteri menunjukkan hasil LIA adalah V/V, apa arti hasil tersebut?
- a. Dekarboksilasi lisin
 - b. Deaminasi lisin
 - c. Fermentasi glukosa
 - d. Oksidasi
44. Hasil uji TSIA suatu bakteri adalah A/A dan media terangkat, apa arti hasil tersebut?
- a. Bakteri memfermentasi glukosa saja tanpa menghasilkan gas
 - b. Bakteri tidak memfermentasi semua gula dan menghasilkan gas
 - c. Bakteri memfermentasikan semua gula dan menghasilkan gas
 - d. Bakteri memfermentasikan laktosa saja dan menghasilkan gas
45. Manakah spesies bakteri di bawah ini yang menghasilkan uji motilitas positif?
- a. *Staphylococcus aureus*
 - b. *Klebsiella pneumoniae*
 - c. *Streptococcus pneumoniae*
 - d. *Proteus mirabilis*
46. Bakteri dengan karakteristik di bawah ini mengarah pada spesies....



- a. *Pseudomonas aeruginosa*
- b. *Escherichia coli*
- c. *Serratia marcescens*
- d. *Klebsiella pneumoniae*

47. Apa nama media di bawah ini?



- a. Urea
- b. LIA
- c. TSIA
- d. Simmon's Citrate

48. Jenis gula apa yang jumlahnya paling banyak di dalam media TSIA?

- a. Laktosa
 - b. Sukrosa
 - c. Glukosa
 - d. Maltosa
49. Bakteri apakah yang menghasilkan uji oksidase positif?
- a. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio cholera*
 - b. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Proteus mirabilis*
 - c. *Salmonella Paratyphi B* dan *Shigella flexneri*
 - d. *Serratia marcescens* dan *Shigella sonnei*

50. Koloni bakteri di bawah ini ditumbuhkan pada media BAP. Apakah jenis hemolisis dari bakteri tersebut?



- a. Alpha
- b. Beta
- c. Gamma
- d. Tidak menghemolisis

Kunci Jawaban

1.D	11.D	21.C	31.C	41.D
2.C	12.C	22.D	32.C	42.A
3.C	13.D	23.B	33.D	43.A
4.B	14.C	24.A	34.D	44.C
5.D	15.B	25.D	35.C	45.D
6.B	16.C	26.A	36.B	46.C
7.C	17.A	27.A	37.C	47.D
8.C	18.C	28.C	38.C	48.C
9.C	19.B	29.C	39.C	49.A
10.C	20.A	30.C	40.C	50.B

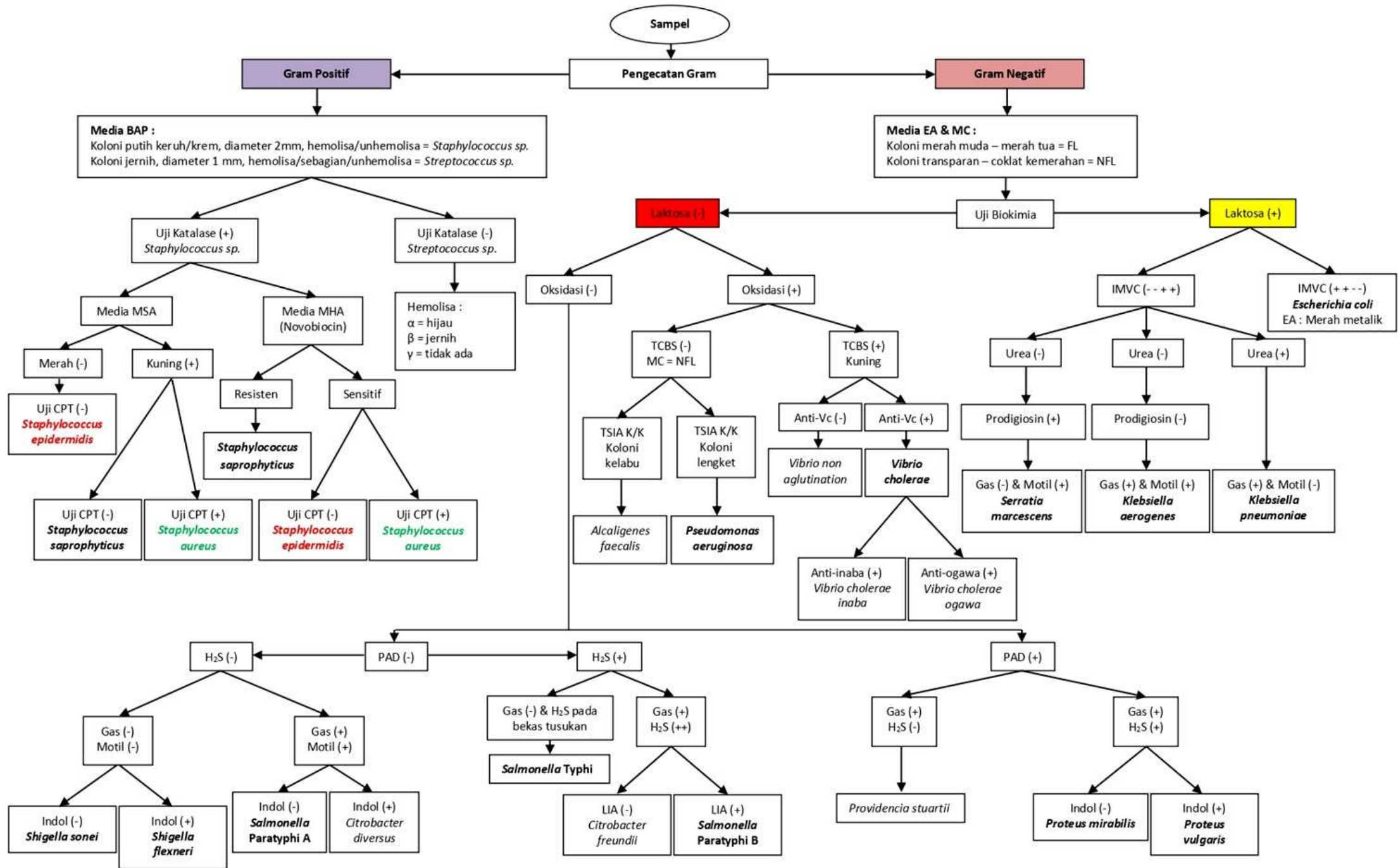
DAFTAR PUSTAKA

- Aboyadak, I. M. *et al.* (2017) 'Non-Selectivity of R-S Media for *Aeromonas hydrophila* and TCBS Media for *Vibrio* Species Isolated from Diseased *Oreochromis niloticus*', *Journal of Aquaculture Research & Development*, 8(7), pp. 1–5. doi: 10.4172/2155-9546.1000496.
- Agarwal, A. N., Dallas, S. D. and Mais, D. D. (2022) 'Sensitivity and Specificity of a Novel Colony Characteristic for Determination of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*', *Cureus*, 14(6), pp. 2–7. doi: 10.7759/cureus.26040.
- Andrews, W. H. and Jacobson, A. (2018) *BAM Chapter 6: Shigella, FDA U.S Food and Drug Administration*. Available at: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-6-shigella> (Accessed: 21 January 2023).
- Aryal, S. (2020a) *Cetrimide Agar, Microbiology Info*. Available at: <https://microbiologyinfo.com/cetrimide-agar-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/> (Accessed: 11 August 2020).
- Aryal, S. (2020b) *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar, Microbiology Info*. Available at: <https://microbiologyinfo.com/thiosulfate-citrate-bile-salts-sucrose-tcbs-agar-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/> (Accessed: 15 August 2020).
- Awais, M. *et al.* (2007) 'Isolation, Identification and Optimization of Bacitracin Produced by *Bacillus* sp.', *Pakistan Journal of Botany*, 39(4), pp. 1303–1312.
- Brenner, F. W. *et al.* (2000) 'Guest Commentary: Salmonella Nomenclature', *Journal of Clinical Microbiology*, 38(7), pp. 2465–2467.
- CDC (2016) *Isolation of Vibrio cholerae from Fecal Specimens, Laboratory Methods for the Diagnosis of Vibrio cholerae*. Available at: <https://www.cdc.gov/cholera/pdf/laboratory-methods-for-the-diagnosis-of-vibrio-cholerae-chapter-4.pdf>.
- Doern, C. D. and Burnham, C. A. D. (2010) 'It's Not Easy Being Green: The Viridans Group Streptococci, with a Focus on Pediatric Clinical Manifestations', *Journal of Clinical Microbiology*, 48(11), pp. 3829–3835. doi: 10.1128/JCM.01563-10.

- Dunmire, C. N. *et al.* (2022) ‘Vibrio cholerae Isolation from Frozen Vomitus and Stool Samples’, *Journal of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, 60(10), pp. 8–11. doi: 10.1128/jcm.01084-22.
- Ekantini, P. R. R. I., Mega, K. T. and Prasajo, P. (2017) ‘Identifikasi Bakteri Bacillus cereus pada Mie Basah di Pasar Kebonpolo Magelang’, *UNIMMA Journal*, pp. 1–5. Available at: <http://journal.ummgl.ac.id>.
- Elkenawy, N. M. *et al.* (2017) ‘Optimization of Prodigiosin Production by *Serratia marcescens* Using Crude Glycerol and Enhancing Production Using Gamma Radiation’, *Biotechnology Reports*. Elsevier B.V., pp. 1–35. doi: 10.1016/j.btre.2017.04.001.
- Hagiya, H. *et al.* (2014) ‘Clinical Utility of String Test as a Screening Method for Hypermucoviscosity-phenotype *Klebsiella pneumoniae*’, *Acute Medicine & Surgery*, 1(4), pp. 245–246. doi: 10.1002/ams2.40.
- Haque, M. A. *et al.* (2021) ‘Pathogenicity of Feed-Borne *Bacillus cereus* and Its Implication on Food Safety’, *Agrobiological Records*, 3(October), pp. 1–16. doi: 10.47278/journal.abr/2020.015.
- Hardy Diagnostics (2017) *Cetrimide Selective Agar*. Cat. no. G18.
- Hardy Diagnostics (2020) *TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose) Agar*. Available at: https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/product/g55-tcbs-thiosulfate-citrate-bile-sucrose-agar-for-vibrio-15x100mm-plate-order-by-the-package-of-10-by-hardy-diagnostics-media-prepared.
- History (2020) *Cholera*. Available at: <https://www.history.com/topics/inventions/history-of-cholera> (Accessed: 21 December 2020).
- Levine, M. M., Tapia, M. D. and Zaidi, A. K. M. (2011) *Typhoid and Paratyphoid (Enteric) Fever*. Third Edit, *Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice*. Third Edit. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-7020-3935-5.00016-1.
- Lupindu, A. M. (2017) *Isolation and Characterization of Escherichia coli from Animals, Humans, and Environment*. Recent Adv. Edited by A. Samie. IntechOpen. doi: <https://doi.org/10.5772/67390>.

- Patterson, M. J. (1996) 'Streptococcus', in Baron, S. (ed.) *Medical Microbiology*. 4th Edition. University of Texas Medical Branch at Galveston. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7611/>.
- Ramarao, N. *et al.* (2020) 'Advanced Methods for Detection of *Bacillus cereus* and Its Pathogenic Factors', *Sensors (Switzerland)*, 20(9). doi: 10.3390/s20092667.
- Ramiah, P. and Hendrayana, M. A. (2017) *Isolation and Identification of Staphylococcus aureus from Environmental Factors*. Universitas Udayana.
- Reiner, K. (2010) *Catalase Test Protocol*. Available at: <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3226-catalase-test-protocol>.
- Sapkota, A. (2020) *Cetrimide Agar Test - Principle, Procedures, Result, Uses, Microbe Notes*. Available at: <https://microbenotes.com/cetrimide-agar-test-principle-procedures-and-result-interpretation/> (Accessed: 11 August 2020).
- Shields, P. and Cathcart, L. (2010) *Oxidase Test Protocol, American Society for Microbiology*. Available at: <https://asm.org/Protocols/Oxidase-Test-Protocol>.
- Spellerberg, B. and Brandt, C. (2016) *Laboratory Diagnosis of Streptococcus pyogenes (Group A Streptococci)*. Edited by J. J. Ferretti, D. L. Stevens, and V. A. Fischetti. Oklahoma: University of Oklahoma Health Sciences Center. Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343617/pdf/Bookshelf_NBK343617.pdf.
- Thermo Fisher Scientific (2020) *Cetrimide Agar (USP,EP) (Dehydrated)*. CM0579B. Available at: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/CM0579B>.
- Uyttendaele, M. *et al.* (2001) 'Evaluation of Culture Media for Enrichment and Isolation of *Shigella sonnei* and *S. flexneri*', *International Journal of Food Microbiology*, 70(3), pp. 255–265. doi: 10.1016/S0168-1605(01)00549-9.
- Vickers, A. A., Chopra, I. and O'Neill, A. J. (2007) 'Intrinsic Novobiocin Resistance in *Staphylococcus saprophyticus*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(12), pp. 4484–4485. doi: 10.1128/AAC.00708-07.
- Wesevich, A. *et al.* (2020) 'Newly Named *Klebsiella aerogenes* (Formerly *Enterobacter aerogenes*) is Associated with Poor Clinical Outcomes Relative to Other *Enterobacter*

- Species in Patients with Bloodstream Infection’, *Journal of Clinical Microbiology*, 58(9), pp. 1–9. doi: 10.1128/JCM.00582-20.
- WHO (2018) *Salmonella (Non-Typhoidal)*. Available at: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)) (Accessed: 11 January 2023).
- WHO (2020) *Cholera*. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cholera> (Accessed: 21 December 2020).
- Williams, R. P. *et al.* (1971) ‘Influence of Temperature of Incubation and Type of Growth Medium on Pigmentation in *Serratia marcescens*.’, *Journal of Bacteriology*, 106(2), pp. 438–443. doi: 10.1128/jb.106.2.438-443.1971.
- Yu, V. L. (1979) ‘*Serratia marcescens* — Historical Perspective and Clinical Review’, *The New England Journal of Medicine*, 300, pp. 887–893. doi: DOI: 10.1056/NEJM197904193001604.



TABEL UJI BOKIMIA SPESIES BAKTERI GRAM NEGATIF

No	Spesies	MC	EA	Indol	MR	VP	CITRAT	MOTIL	UREA	TSIA	Gas	H ₂ S	Glukosa	Laktosa	Sukrosa	Maltosa	Mannosa
1	<i>Escherichia coli</i>	FLC	MK	+	+	-	-	+	-	A/A	+	+	+	+	+	+	+
2	<i>Klebsiella aerogenes</i>	FLC	MS	-	-	+	+	+	-	A/A	-	-	+	+	+	+	+
3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	FLC	MS	-	-	+	+	-	+	A/A	+	-	+	+	+	+	+
4	<i>Serratia marcescens</i>	FLL	-	-	-	+	+	+	-	K/A	-	-	v	+	+	+	+
5	<i>Salmonella Typhi</i>	NFL	-	-	+	-	-	+	-	K/A	-	+	+	-	-	+	+
6	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	NFL	-	-	+	-	-	+	-	K/A	+	-	+	-	-	+	+
7	<i>Salmonella Paratyphi B</i>	NFL	-	-	+	-	-	+	-	K/A	+	++	+	-	-	+	+
8	<i>Shigella flexneri</i>	NFL	-	v	+	-	-	-	-	K/A	-	-	v	-	-	+	v
9	<i>Shigella sonnei</i>	NFL	-	-	+	-	-	-	-	K/A	-	-	+	v	v	+	+
10	<i>Proteus mirabilis</i>	NFL	-	-	+	-	+	+	+	K/A	-	+	+	-	v	-	-
11	<i>Proteus vulgaris</i>	NFL	-	+	-	+	v	+	+	K/A	-	+	+	-	+	-	+
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NFL	-	-	-	-	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	-	-
13	<i>Vibrio cholerae</i>	NFL	-	+	-	v	+	+	-	K/A	-	-	+	v	+	+	+
14	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	NFL	-	+	-	-	v	+	+	K/A	-	+	+	-	+	+	+

Keterangan :

FLC : Fermenter Laktosa Cepat

FLL : Fermenter Laktosa Lambat

NFL : Non Fermenter Laktosa

H₂S ++ : Berlebih / banyak

v : Variabel (hasil dapat positif atau negatif)

MK : Merah metalik keseluruhan pada koloni

MS : Merah metalik sebagian pada koloni

A/A : Acidi/Acidi

K/A : Alkali/Acidi

K/K : Alkali/Alkali

& Isolasi Identifikasi Bakteri Klinik

**Penulis:
apt. Mulia Susanti S.Far.,M.Pd
Argo Ganda Gumilar S.Tr. A.K**



ISBN 978-623-88883-7-5 (PDF)

