

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**Pemantapan Mutu Internal
Laboratorium Medis
Tahap Analitik
Kontrol Kualitas Non Numerik Bakteriologi**



Bambang Supriyanta, S.Si., M.Sc

**PRODI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS AISYIAH YOGYAKARTA**

- **Pelaksanaan kontrol kualitas Non Numerik pada pemeriksaan Bakteriologi**

Pelaksanaan kontrol kualitas non numerik pada pemeriksaan Bakteriologi untuk memastikan akurasi, reliabilitas dan reproduibilitas dari bermacam pemeriksaan yang digunakan dalam isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas terhadap bakteri

- Kontrol kualitas Non Numerik pada pemeriksaan Bakteriologi meliputi :

1. Uji Kualitas pewarna
2. Uji Kualitas media
3. Uji Sensitivitas Antibiotik
4. Uji Kualitas peralatan

1. Uji Kualitas Pewarna (1)

Uji Kualitas pewarna pada Kontrol Kualitas Non numerik pada pemeriksaan bakteriologi meliputi :

a. **Label wadah reagen**

Nama, kode , konsentrasi, tanggal produksi serta nomor batch pereaksi

Batas kadaluarsa

Keadaan fisik

Kemasan harus dalam keadaan utuh,

Isi tidak mengeras

Tidak terjadi perubahan warna

1. Uji Kualitas Pewarna (2)

b. Penyimpanan

Penyimpanan pereaksi mempunyai persyaratan khusus seperti tidak boleh terkena paparan cahaya, pada suhu dingin atau beku dll

c. Pencampuran

Beberapa pereaksi memerlukan pencampuran satu dengan yg lain atau pengenceran dengan aquabides sebelum digunakan.

1. Uji Kualitas Pewarna (3)

d. Uji kualitas pewarna

Uji kualitas pewarna dilakukan pada :

Setiap kali menggunakan nomor batch baru.

Setiap minggu (untuk pewarna Ziehl Neelsen)

Bila ditemukan tanda-tanda kerusakan (timbul kekeruhan, perubahan warna, timbul endapan)

Bila terdapat kecurigaan terhadap hasil pemeriksaan

Penggunaan pewarna baru

Pewarna baru setelah selesai dibuat

Pengujian kualitas pewarna dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri

Uji Kualitas Pewarna

Larutan pewarna	Bakteri kontrol	Hasil yang diharapkan
Pewarna Gram	S. aureus E.coli	Kokkus gram positif Batang gram negatif
Pewarna Ziehl Neelsen	M. tuberculosis E. coli	Batang berwarna merah Batang berwarna biru
Pewarna Acridine orange	E.coli S.aureus	Berflouresensi Basil/kokkus

2. Uji Kualitas Media (1)

Uji kualitas media pada Kontrol Kualitas Non numerik pada pemeriksaan bakteriologi meliputi :

1. Jenis media

Media dehidrasi

Media dehidrasi ditambah zat additive

Zat additive yg biasa digunakan merupakan material yg tdk stabil, misal : darah, serum, growth factor

Media komersial (siap pakai)

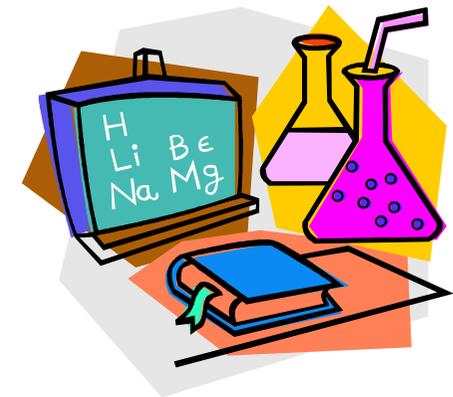
2. Nomor Lot media kultur

3. Metode sterilisasi media

4. pH media

Media yg menyimpang $> 0,2$ unit pH dari pH optimum harus dibuang.

5. Masa kadaluarsa media



2. Uji Kualitas Media (2)

6. Pengamatan visual :

- ✓ Bila terjadi kekeruhan, maka beberapa unsur utama dari media sudah rusak
- ✓ Warna yg lebih gelap dari normal, diakibatkan terlalu lama pemansan (contoh media karbohidrat), pH yang tidak sesuai atau pencampuran yang tidak benar
- ✓ Warna yang lebih muda dari normal, disebabkan oleh pH yang tidak sesuai dan pencampuran atau pelarutan yang tidak benar
- ✓ Penyimpanan media yang lama, berakibat dehidrasi sehingga media sudah tidak layak digunakan.
- ✓ Untuk menghindari dehidrasi, maka pembuatan disesuaikan dengan kebutuhan, dibungkus dengan plastik

2. Uji Kualitas Media (3)

7. Uji sterilitas

Uji sterilitas dengan cara menyimpan media yang dibuat atau media yang sudah jadi, diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37°C

Bila terdapat pertumbuhan bakteri, berarti seluruh media yang dibuat tidak steril, sehingga tidak bisa dipakai.

8. Uji pertumbuhan bakteri

Uji pertumbuhan bakteri dengan cara menginokulasikan isolat bakteri tertentu pada media tertentu

- ➔ Bakteri kontrol positif adalah bakteri yang seharusnya tumbuh pada media tertentu
- ➔ Bakteri kontrol negatif adalah bakteri yg seharusnya tidak tumbuh pada media tertentu

2. Uji Kualitas Media (4)

9. Uji respon biokimiawi bakteri

Uji respon biokimiawi bakteri dengan melihat respon biokimiawi oleh bakteri yang dilakukan dengan menginokulasi isolat bakteri standar pada media tersebut, kemudian dilihat reaksi spesifik, misalnya terjadi fermentasi, produksi H₂S dll, tertera pada tabel

Uji kualitas media dengan pertumbuhan bakteri dan respon biokimiawi bakteri pada tabel berikut

Tabel Uji kualitas media dengan jenis bakteri dan respon biokimiawinya

Media	Bakteri Kontrol	Inkubasi	Hasil Yang Diharapkan
Voges Proskauer	Enterobacter aerogenes Esch. coli	24 Jam	Tumbuh , menjadi merah Tidak tumbuh, tidak ada perubahan warna
Blood agar	S.pyogenes S.pneumonia	24 jam	Tumbuh dan β hemolisis Tumbuh dan α hemolisis
Gelatine	E.Coli Serratia marcescens	24 jam	Negatip Positip
Ornithine	S. typhymurium K. pneumoniae	48 jam	Positip Negatip
Arginine	S. typhymurium K. pneumoniae	48 jam	Positip Negatip

Tabel Uji kualitas media dengan jenis bakteri dan respon biokimiawinya

Procedure/ Test	Control organism	Expected result	Expected reaction
Catalase	Staph aureus	+	Bubbling reaction
	Streptococcus species	-	No bubbling
Coagulase	Staph aureus	+	Clot formation in 4 hours
	Staph epidermidis	-	No clot
Indole	Esch coli	+	Red ring at surface
	Enterobacter aerogenes	-	Yellow ring at surface
Methyl red	Esch coli	+	Instant red colour
	Ent aerogenes	-	No colour change
Oxidase	P. aeruginosa	+	Purple colour in 20 seconds
	Esch. coli	-	No colour in 20 seconds

Tabel Uji kualitas media dengan jenis bakteri dan respon biokimiawinya

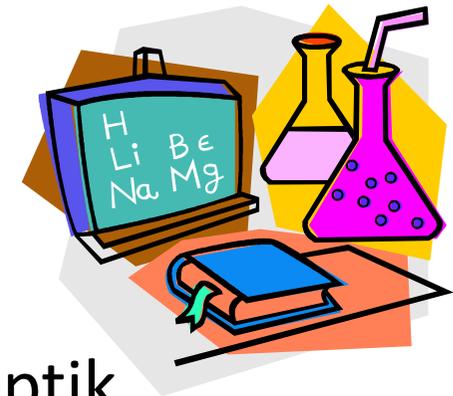
Media	Inkubasi	Bakteri Kontrol	Hasil Yg Diharapkan
MacConkey agar	24 jam	E.coli	Koloni merah
		P.mirabilis	Koloni tak berwarna
Malonate broth	24 jam	E.coli	Negatip (hijau)
		K.pneumoniae	Positip (biru)
Manitol salt agar	24 jam	S.aureus	Koloni kuning
		S epidermidis	Koloni merah muda
		E.coli	Tidak tumbuh
Methyl Red/ Voges Pueskauer	48 jam	E.coli	positip/negatip
		K.pneumoniae	positip/negatip
Nitrat broth	24 jam	E.coli	Positip
		Acinetobacter	Negatip
OF dextrose (without oil)	24 jam	P.aeruginosa	Oksidasi pada permukaan
		Acinetobacter	tidak ada perubahan
Pepton water (Indol)	24 jam	E.coli	Positip (cincin merah)
		P.mirabilis	Negatip (cincin kuning)

Tabel Uji kualitas media dengan jenis bakteri dan respon biokimiawinya

Media	Inkubasi	Bakteri Kontrol	Hasil Yg Diharapkan
Phenilalanine deaminase	24 jam	E.coli	Negatip
		P.mirabilis	Positip
Rappaport broth	24 jam	S. typhimurium	Tumbuh setelah sub kultur
Selenite broth & Tetrathionate broth		E.coli	Tumbuh tanpa sub kultur
Salmonella/ Shigella (SS) agar	24 jam	E.coli	Tumbuh koloni
		Yersinia	Tidak berwarna
Simmons citrate	48 jam	E.coli	Tidak tumbuh
		K. pneumoniae	Tumbuh warna biru
TCBS	24 jam	Vibrio (non agglutinable)	Koloni kuning
		E.coli	Tidak tumbuh
Thayer-Martin agar	24 jam, CO ₂	N.meningitidis	Tumbuh
		E.coli	Tidak tumbuh
Thioglycollate	24 jam	Bacteroides fragilis	Tumbuh
Urea medium	24 jam	E.coli	Negatip
		P. mirabilis	Positip (merah muda)

Berbagai kesalahan pada media

- Pemilihan media yang tidak tepat
- Kualitas aquades kurang baik
- Penimbangan tidak tepat
- Penuangan media tidak aseptis
- Sterilisasi media tidak tepat (lama, suhu)
- Kotoran pada alat gelas
- Cawan atau tabung untuk media tidak aseptik
- Volume agar pada cawan petri terlalu tipis atau terlalu tebal



QC procedures for commonly used tests

Procedure/ Test	Control organism	Expected result	Expected reaction
Catalase	<i>Staph aureus</i>	+	Bubbling reaction
	<i>Streptococcus sp.</i>	-	No bubbling
Coagulase	<i>Staph aureus</i>	+	Clot formation in 4 hours
	<i>Staph epidermidis</i>	-	No clot
Indole	<i>Esch coli</i>	+	Red ring at surface
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	Yellow ring at surface
Methyl red	<i>Esch coli</i>	+	Instant red color
	<i>Ent aerogenes</i>	-	No color change
Oxidase	<i>P. aeruginosa</i>	+	Purple color in 20 seconds
	<i>Esch. coli</i>	-	No color in 20 seconds

3. Uji Sensitivitas Antibiotik (1)

Uji sensitivitas antibiotik merupakan pemeriksaan yang mengukur kemampuan dari suatu antibiotika atau antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri in vitro

Tujuan Uji sensitivitas antibiotik :

1. Membantu klinisi memilih antimikroba terbaik untuk masing-masing pasien.
2. Mengumpulkan informasi epidemiologi tentang mikroorganisme yang resisten dalam komunitas, untuk kepentingan kesehatan masyarakat.

Pelaksanaan Uji Sensitivitas Antibiotik

1. Metode Dilusi :

- a. Antibiotika diencerkan dalam media agar, kemudian diinokulasi dengan bakteri yang diuji
- b. Konsentrasi terendah yg mampu mencegah pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi semalam disebut *minimum inhibitory concentration* (MIC)

2. Metode Difusi

- a. Cakram kertas berisi antibiotik dosis tertentu diletakkan pada media agar yang sudah diinokulasi dengan bakteri yang diuji.
- b. Metode yang direkomendasikan oleh NCCLS/CLSI adalah modifikasi metode Kirby – Bauer

Tabel Uji Sensitivitas Antibiotik dengan Bakteri

Procedure/ Test	Control organism	Expected result	Expected reaction
Bacitracin disc	<i>Streptococcus group A</i>	+	Zone of inhibition
	<i>Ent faecalis</i>	-	No zone of inhibition
Optochin disc	<i>Strept. pneumoniae</i>	+	Zone of inhibition
	<i>Strept. vridans</i>	-	No zone of inhibition
ONPG disc	<i>Esch. coli</i>	+	Yellow color
	<i>Proteus vulgaris</i>	-	No change in color
Oxidase disc	<i>P aeruginosa</i>	+	Purple color in 30 seconds
	<i>Esch. coli</i>	-	No change in color

Basic sets of drugs for routine susceptibility tests

	Set 1	Set 2
<i>Staphylococcus</i>	Benzyl penicillin Oxacillin Erythromycin Tetracycline Chloramphenicol	Gentamicin Amikacin Co-trimoxazole Clindamycin
<i>Intestinal</i>	Ampicillin Chloramphenicol Co-trimoxazole Nalidixic acid Tetracycline	Norfloxacin
<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Urinary</i>	Sulfonamide Trimethoprim Co-trimoxazole Ampicillin Nitrofurantoin Nalidixic acid	Tetracycline Norfloxacin Chloramphenicol Gentamicin

4. Uji Kualitas Peralatan

Uji kualitas peralatan pada Kontrol Kualitas Non numerik Bakteriologi antara lain meliputi :

a. Inkubator

Pengukuran suhu inkubator harus dilakukan setiap hari sebelum mulai bekerja

Penyimpangan suhu yang melebihi 2 °C pengaturan suhu.

b. Kulkas (refrigerator)

Pengukuran suhu dilakukan setiap hari menggunakan termometer standar

Cocokkan hasil yg didapat antara suhu yg ditunjukkan termometer dgn *digital display* pd *freezer*

c. Oven

Secara berkala dilakukan pengukuran suhu menggunakan termometer standar

Cocokkan suhu yg tercantum dalam oven dan suhu yg ditunjukkan oleh termometer standar

d. Neraca

Kalibrasi dilakukan secara berkala menggunakan anak timbangan standar kelas M untuk timbangan analitik

anak timbangan standar kelas S untuk timbangan elektrik

e. Autoclave

Pengujian kualitas autoclave dapat dilakukan menggunakan :

1) Autoclave indicator tape

Rekatkan indikator tape secara melingkar pada kemasan yg akan disterilisasi

Atur suhu, waktu dan tekanan. Hidupkan autoklaf

Setelah selesai lihat perubahan pada indikator tape.

Bila proses sterilisasi berjalan dengan benar maka terjadi perubahan pd indikator tape dari putih menjadi coklat kehitaman

2) *Bacillus stearothermophilus*

Masukkan *Bacillus stearothermophilus* (bentuk liofilisat) dalam autoklaf

Atur suhu, waktu dan tekanan. Hidupkan autoklaf

Selesai, pemakaian autoclave, diambil *Bacillus stearothermophilus* dan ditanam pada blood agar, inkubasi 40-60 °C selama 24-48 jam

Bila proses sterilisasi baik, maka tidak ada pertumbuhan *Bacillus stearothermophilus*

Methods of validating sterilization processes

Process	Physical methods	Chemical methods	Biological test organism
Dry heat	Temperature recording charts	color change indicator	<i>B.subtilis var niger</i>
Moist heat	Temperature recording charts	color change indicator	<i>B.stearothermophilus</i>

Biological Indicators

Bacillus stearothermophilus: lacks pathogenicity, pyrogenicity and toxicity

The number of spores is 10^4 to 10^6 for *B.stearothermophilus* and 10^6 for *Bacillus subtilis var niger*

