



unisa
Universitas 'Aisyiyah
Yogyakarta



PEMERIKSAAN MIKROLOGI



unisa
Universitas 'Aisyiyah
Yogyakarta

MIKROLOGI

Dwi Ernawati, M.Keb.



رَضِيتُ بِاللَّهِ رَبًّا وَبِالْإِسْلَامِ دِينًا وَبِمُحَمَّدٍ نَبِيًّا وَرَسُولًا
رَبِّي زِدْنِي عِلْمًا وَارزُقْنِي فَهْمًا

“Kami ridho Allah SWT sebagai Tuhanku, Islam sebagai agamaku, dan Nabi Muhammad sebagai Nabi dan Rasul, Ya Allah, tambahkanlah kepadaku ilmu dan berikanlah aku kefahaman”



TUJUAN PEMBELAJARAN/ LO/ CAPAIAN PEMBELAJARAN

Ketepatan menjelaskan karakteristik, konsep dasar, virology, mikroorganismes, pemeriksaan mikrobiologi

Peralatan dan Teknik Identifikasi Mikroba (Patogen)

Alat yang digunakan untuk identifikasi terdiri dari alat laboratorium biasa, peralatan umum mikrobiologi, dan alat alat khusus

1. Klasifikasi pertama : tabung reaksi, Erlenmeyer, gelas ukur, pipet, cawan petri, ose, dll
2. Klasifikasi kedua
 - a. Inkubator biasa digunakan untuk menstabilkan suhu mikroba yang akan diteliti, dan ada pula incubator khusus untuk keperluan bakteri aerob/anaerob

- b. Refrigerator : untuk menyimpan media, darah, serum, atau antibiotic
- c. Centrifuge : digunakan bila kuman sedikit dan sebelum dibiak/diperiksa larutan yang mengandung kuman diputar terlebih dahulu agar mengendap
- d. Sterilisator : semua alat/plastic perlu disterilkan terlebih dahulu sebelum digunakan untuk memeriksa
- e. Oven (dry oven untuk mengeringkan alat
- f. Autoklaf : untuk mensterilkan alat, media biakan, dll.

Peralatan dan Teknik Identifikasi Mikroba (Patogen)

3. Alat Khas Mikrobiologi

- a. Mikroskop
 - b. EM (electro microscope)
 - c. Scanning EM
 - d. Kultur atau media pembiakan kuman
- 

MIKROSKOP

Macam Mikroskop

1. Bright-field microscope (mikroskop cahaya)
2. Dark-field microscope (mikroskop yang menggunakan kondensator khusus)
3. Mikroskop phase-contrast (mikroskop ini dilengkapi oleh cin opaque serta prinsip interferensi. Gunanya untuk mengamati struktur internal)
4. Mikroskop Normarsky (mikroskop ini menggunakan prisma dan prinsip interferensi untuk detail tiga dimensi)

Syarat Spesimen agar Terlihat Jelas di Bawah Mikroskop

1. Magnifikasi yang cukup (ditentukan oleh ukuran lensa okuler dan obyektif)
2. Resolusi cukup (ditentukan oleh rendahnya panjang gelombang/ λ)
3. Kontras cukup (yakni dengan pemberian pewarnaan)

Prinsip magnifikasi adalah bahwa cahaya mengalami fraksi bila melewati sustansi dengan indeks refraksi yang berbeda. Bila melewati lensa konveks maka bayangan akan diperbesar terbalik. Juga bila obyek lebih dekat atau lensa lebih cembung maka bayangan akan lebih besar

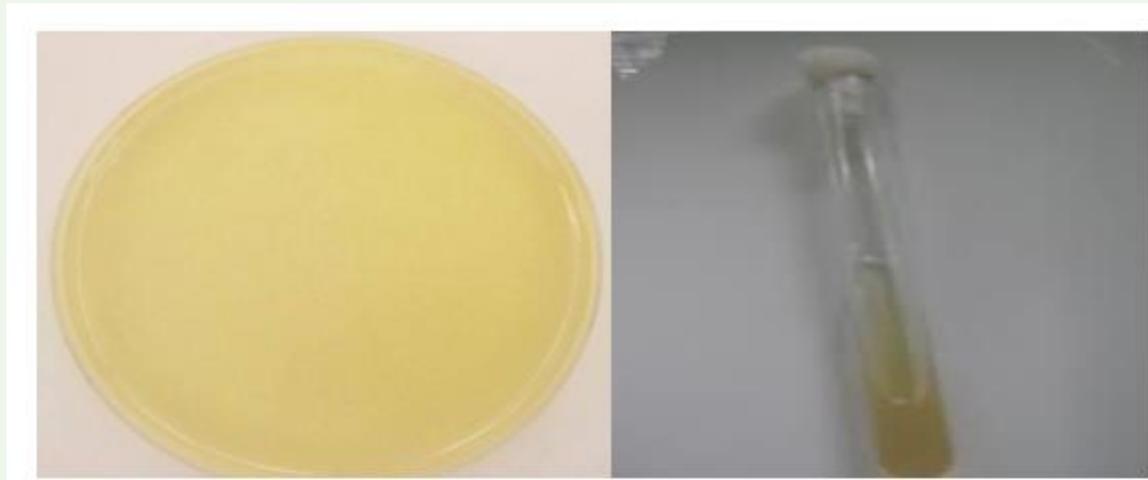
KULTUR MEDIA

Media Padat (Agar)

Media padat mengandung komposisi agar sebesar 15 %. Media padat digunakan untuk mempelajari koloni kuman, untuk isolasi dan untuk memperoleh biakan murni. Contoh media padat Nutrient Agar (NA); Potato Dextrose Agar (PDA); Plate Count Agar (PCA), dan lain-lain.

Digunakan untuk test sensitive. Pada test sensitivitas, media biasanya dimaksukan dalam incubator selama 18-24 jam. Setelah test tersebut akan menyebabkan timbulnya zona inhibisi. Semakin lebar zona ini semakin kuat obat tersebut terhadap bakteri yang diperiksa. Bila sama sekali tidak ada zona setelah dilakukan test tersebut, maka dikatakan bakteri tersebut resisten terhadap antibiotic tersebut

Media Padat

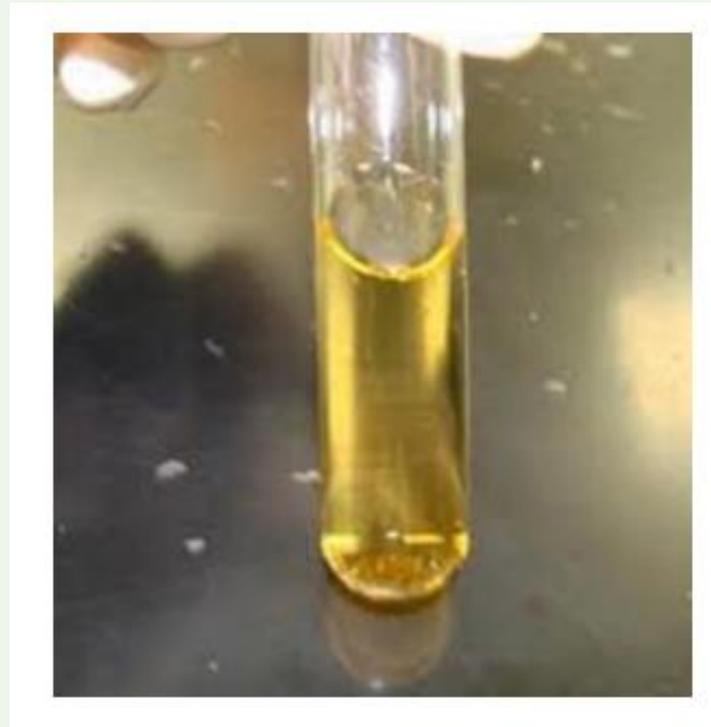


Media Cair (Broth)

Media cair digunakan untuk pembenihan diperkaya sebelum disebarke media padat, tidak cocok untuk isolasi mikroba dan tidak dapat dipakai untuk mempelajari koloni kuman.

Contoh media cair Nutrient broth (NB); Pepton dilution fluid (PDF); Lactose Broth (LB); Mac Conkey Broth (MCB), dan lain-lain.

Media Cair



Jenis	Nama	Fungsi
Cair	Kaldu Nutrisi (Nutrient Broth)	Media Pengayaan dan pembiakan
	Kaldu darah	Media pembiakan dan melihat sifat hemolysis
	Air Pepton (Pepton Dilution Fluid/PDF)	Media pengayaan
	Kaldu empedu	Media pembiakan bakteri enterik
	Gula pepton (kaldu gula) dengan gula yang digunakan glukosa atau laktosa	Media untuk melihat fermentasi gula
Semi padat	0,5% agar	Untuk melihat gerak bakteri
Padat	Agar nutrisi (Nutrient Agar)	Untuk mempelajari koloni bakteri
	Agar Darah	Untuk melihat koloni bakteri dan sifat hemolysis
	Agar endo	Media pembiakan bakteri enterik, dapat digunakan untuk membedakan bakteri peragi laktosa dan bukan peragi laktosa
	EMBA-eosin Methylene Blue Agar	Media pembiakan bakteri enterik, dapat digunakan untuk membedakan bakteri peragi laktosa dan bukan peragi laktosa
	SS Agar – Salmonella Shigella Agar	Media pembiakan Salmonella dan Shigella
	TCBS – Thiosulphate Citrate Bile	Media Pembiakan Vibrio
Agar miring	Agar darah telurit	Media pembiakan Corynebacterium diphtheriae
Agar miring	Lowenstein-Jensen	Media pembiakan Mycobacterium tuberculosis

	TSIA – Triple Sugar Iron Agar	Media untuk melihat kemampuan bakteri dalam meragi gula dan membentuk H ₂ S
	Nutrient Agar	Untuk peremajaan koloni murni

PEWARNAAN BAKTERI GRAM

Bentuk bakteri sangat bermacam-macam. Melihat dan mengamati bakteri dalam keadaan hidup sangat sulit, karena selain bakteri itu tidak berwarna juga transparan dan sangat kecil. Untuk mengatasi hal tersebut maka dikembangkan suatu **teknik pewarnaan sel bakteri** ini merupakan salah satu cara yang paling utama dalam penelitian-penelitian mikrobiologi (Dwidjoseputro, 1998).

Pewarnaan gram bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri dengan mudah. Pewarnaan gram untuk membedakan spesies bakteri menjadi **dua kelompok besar, yakni gram positif dan gram negatif**, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel mereka. Metode ini diberi nama berdasarkan penemunya, ilmuwan Denmark Hans Christian Gram (1853–1938) yang mengembangkan teknik ini pada tahun 1884.

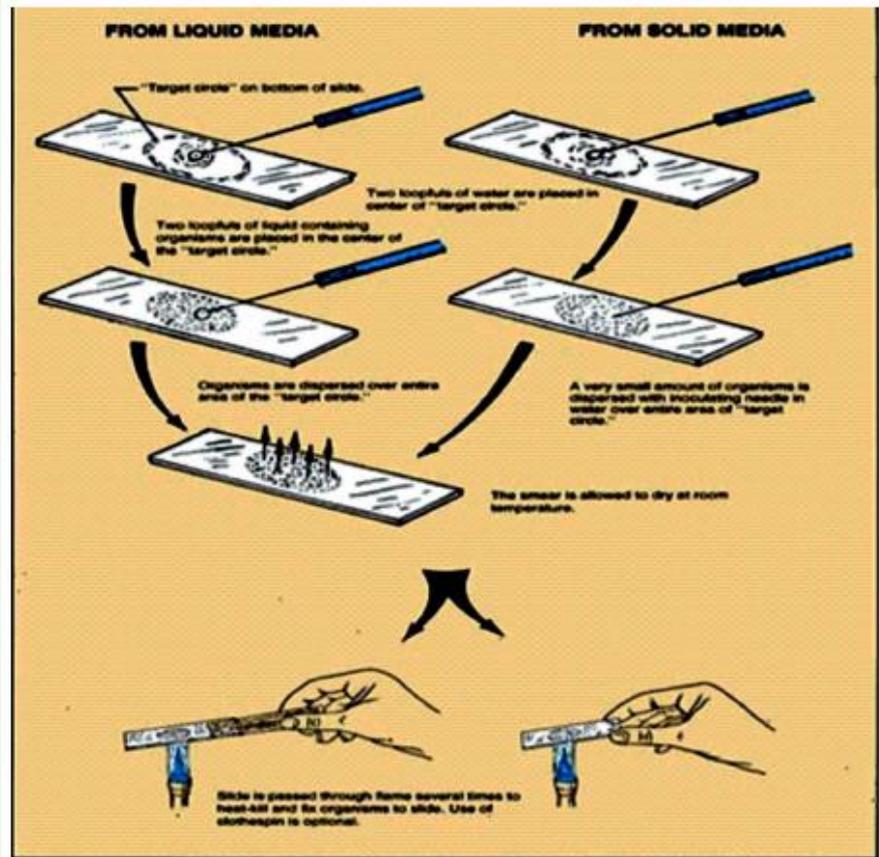
Bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode pewarnaan gram. **Bakteri gram positif** akan mempertahankan zat warna metil ungu gelap setelah dicuci dengan alcohol.

Dasar dari teknik adalah bakteri diberi warna dasar kristal violet dan diberikan larutan iodine kemudian dilunturkan oleh alcohol, sebagian kuman berwarna ungu, karena sel mengikat senyawa kristal violet-iodine

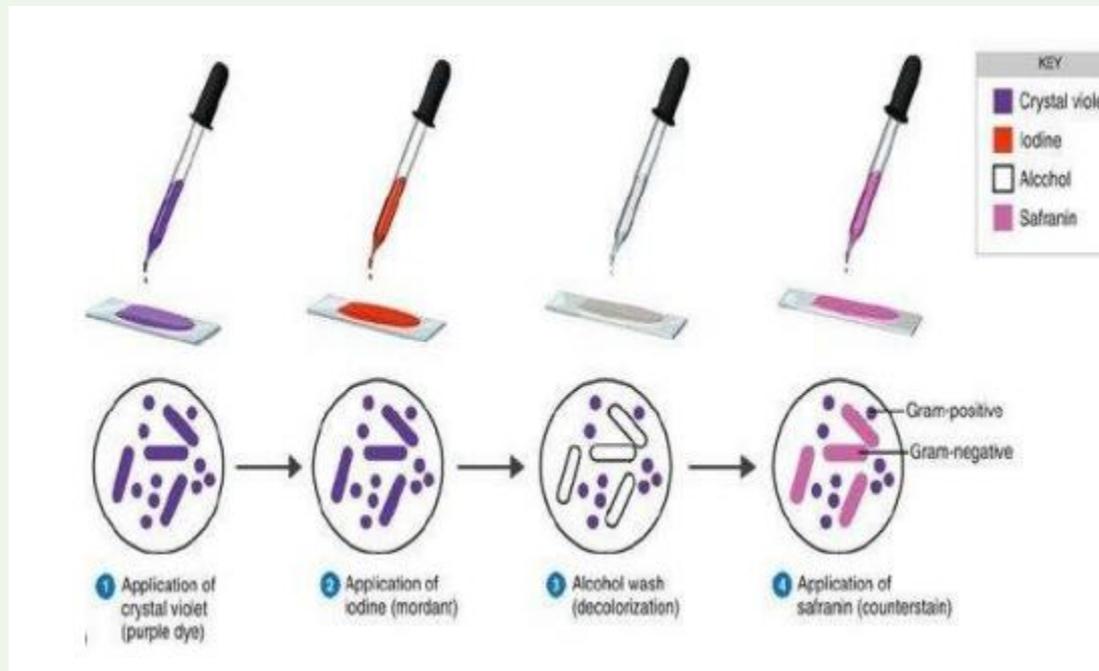
Sebagian kuman lain kehilangan warna dasar dan mengambil warna kedua safranin/fuchsin yang berwarna merah. Kuman yang mempertahankan warna dasar ungu disebut kuman Gram positif dan kuman yang mengambil warna kedua merah disebut kuman Gram negatif.

Untuk melakukan pewarnaan, bakteri dibuat pulasan lebih dahulu di atas kaca objek. Sebelum dilakukan pewarnaan dibuat ulasan bakteri di atas kaca objek. Pada pembuatan pulasan perlu diperhatikan ketebalan dari bakteri yang dipulas, tidak terlalu padat atau tipis agar tidak mengganggu pengamatan dan diperoleh hasil yang baik.

Kemudian pulasan bakteri difiksasi. Fiksasi dilakukan dengan cara melewatkan preparat diatas api atau merendamnya dengan metanol. Fiksasi bertujuan melekatkan bakteri pada glass objek dan mematikan bakteri. Setelah fiksasi dilakukan maka teknik pewarnaan dapat segera



Procedure for making a bacterial smear



DOA SESUDAH BELAJAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

اللَّهُمَّ أَرِنَا الْحَقَّ حَقًّا وَارْزُقْنَا اتِّبَاعَهُ وَأَرِنَا الْبَاطِلَ بَاطِلًا
وَارْزُقْنَا اجْتِنَابَهُ

Ya Allah Tunjukkanlah kepada kami kebenaran sehingga kami dapat mengikutinya Dan tunjukkanlah kepada kami kejelekan sehingga kami dapat menjauhinya

TERIMAKASIH





UNISA
Universitas 'Aisyiyah
Yogyakarta