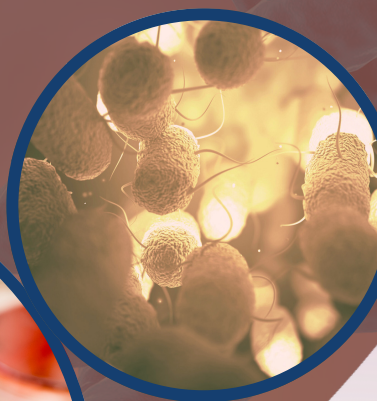


BAKTERIOLOGI:

Pendekatan Siklus Kerja Analisis Kesehatan



PENULIS:

Jajang Japar Sodik
Ika Ristia Rahman
Nita Andriani Lubis
Luluk Aniqoh Meliana Putri
Hendri Satria Kamal Uyun

BAKTERIOLOGI: Pendekatan Siklus Kerja Analisis Kesehatan

**Jajang Japar Sodik
Ika Ristia Rahman
Nita Andriani Lubis
Luluk Aniqoh Meliana Putri
Hendri Satria Kamal Uyun**



GETPRESS INDONESIA

**BAKTERIOLOGI:
Pendekatan Siklus Kerja Analis Kesehatan**

Penulis : Jajang Japar Sodik
Ika Ristia Rahman
Nita Andriani Lubis
Luluk Aniqoh Meliana Putri
Hendri Satria Kamal Uyun

ISBN: 978-634-255-016-8

Editor : Mila Sari, M.Si.

Desain Sampul dan Tata Letak : Atyka Trianisa, S.Pd.

PENERBIT GET PRESS INDONESIA

Anggota IKAPI No. 033/SBA/2022

Jl. Palarik RT 01 RW 06 Kelurahan Air Pacah
Kecamatan Koto Tangah Padang Sumatera Barat
website: www.getpress.co.id
email: adm.getpress@gmail.com

Cetakan pertama, September 2025

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga buku Bakteriologi Pendekatan Siklus Kerja Analisis Kesehatan ini dapat tersusun dengan baik. Buku ini dirancang untuk memberikan pemahaman menyeluruh mengenai Bakteriologi, dimulai dari definisi, ruang lingkup, sejarah, klasifikasi dan struktur bakteri hingga pertumbuhan dan reproduksinya. Selanjutnya, buku ini membahas pengambilan dan pengolahan sampel, kultur dan identifikasi bakteri. Tidak kalah penting, buku ini juga dilengkapi dengan pembahasan tentang uji kepekaan antibiotik. Dengan susunan materi yang sistematis dan berbasis bukti ilmiah, buku ini diharapkan dapat menjadi referensi penting bagi mahasiswa dan pendidik dalam memahami bakteriologi dengan pendekatan siklus kerja analisis kesehatan.

Padang, Agustus 2025

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
BAB 1 PENGANTAR BAKTERIOLOGI.....	1
1.1 Definisi dan Ruang Lingkup Bakteriologi	1
1.2 Sejarah Perkembangan Ilmu Bakteriologi.....	5
1.3 Klasifikasi dan Struktur Bakteri	9
1.4 Pertumbuhan dan Reproduksi Bakteri.....	13
DAFTAR PUSTAKA	18
BAB 2 PENGAMBILAN DAN PENGOLAHAN SAMPEL.....	21
2.1 Jenis Sampel.....	21
2.2 Pengambilan sampel	22
2.2 Pengolahan sampel	24
DAFTAR PUSTAKA	35
BAB 3 KULTUR BAKTERI	37
3.1 Pendahuluan.....	37
3.2 Persiapan Media Pertumbuhan	39
3.3 Metode Biakan Murni.....	41
DAFTAR PUSTAKA	50
BAB 4 IDENTIFIKASI BAKTERI.....	53
4.1 Pendahuluan.....	53
4.2 Morfologi Bakteri.....	54

4.3 Pewarnaan Bakteri	59
4.4 Uji Biokimia Bakteri	70
DAFTAR PUSTAKA.....	78
BAB 5 Uji KEPEKAAN ANTIBIOTIK	81
5.1 Pendahuluan.....	81
5.2 Klasifikasi Berdasarkan Spektrum	83
5.3 Mekanisme Kerja Antibiotik.....	85
5.4 Pengujian sensitivitas Antibakteri.....	90
DAFTAR PUSTAKA.....	103
BIODATA PENULIS.....	106

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 2 Struktur-struktur Sel.....	12
Tabel 2. 1 Batas Waktu Maksimal Penyimpanan Sampel Air	28
Tabel 4. 1 Komposisi pewarnaan sederhana.....	61
Tabel 4. 2 Interpretasi Uji TSIA.....	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Prosedur Pengolahan Sampel.....	23
Gambar 2. 2 Pengambilan Sampel Air secara Langsung	27
Gambar 2.3 Pengambilan Sampel Air secara Tidak Langsung	27
Gambar 2. 4 Pengambilan Sampel Air.....	28
Gambar 2. 5 <i>Swab</i> kapas.....	31
Gambar 2. 6 Kasa Steril.....	32
Gambar 3. 1 Jenis Sterilisasi.....	41
Gambar 4. 1 Bentuk Morfologi Bakteri.....	55
Gambar 4. 2 <i>Basilus</i>	56
Gambar 4. 3. Bakteri Bentuk Bulat (<i>Coccus</i>).....	57
Gambar 4. 4 Bakteri Bentuk Spiral.....	58
Gambar 4. 5 Interpretasi Pewarnaan Sederhana	62
Gambar 4. 6 Pewarnaan Negatif.....	63
Gambar 4. 7 Pewarnaan Gram	64
Gambar 4. 8 Prinsip Pewarnaan Gram	65
Gambar 4.9 Hasil Pewarnaan Bakteri dengan Gram Positif dan Gram Negatif.....	65
Gambar 4. 10 Hasil Pewarnaan Bakteri Tahan Asam.....	66
Gambar 4. 11 Pengamatan Preparat Spora Bakteri	67
Gambar 4. 12 Pewarnaan Kapsul Metode <i>Burrry</i> <i>Gins</i>	69
Gambar 4. 13 Interpretasi Hasil Pengujian TSIA.....	72
Gambar 4. 14 Interpretasi hasil Pengujian MR.....	76
Gambar 4. 15 Interpretasi Hasil Uji SIM	77
Gambar 5. 1 Mekanisme Utama Kerja Antibiotik.....	90
Gambar 5. 2 Uji Aktivitas Antibakteri Atau Antimikroba Dengan Metode Diffusi Agar Sumber	92

**Gambar 5. 3 Uji Aktivitas Antibakteri Atau
Antimikroba Dengan Metode E. test..... 93**

BAB 1

PENGANTAR BAKTERIOLOGI

Oleh Jajang Japar Sodik

1.1 Definisi dan Ruang Lingkup Bakteriologi

1.1.1 Pengertian Bakteriologi

Bakteriologi adalah cabang ilmu biologi (khususnya mikrobiologi) yang dikhususkan untuk mempelajari bakteri secara mendalam. Ilmu ini tidak hanya mempelajari nama dan jenis-jenis bakteri, tetapi juga mencakup kajian tentang struktur dan morfologi sel bakteri, fisiologi dan cara kerja sel bakteri, klasifikasi dan identifikasi bakteri, serta interaksi bakteri dengan lingkungannya (Utami, 2023). Bahkan, ruang lingkup bakteriologi mencakup pula pengendalian bakteri dan peranannya bagi kehidupan. Hal ini dikarenakan bakteri sebagai makhluk hidup mikroskopis bersel satu (uniseluler) dapat memberikan dampak yang menguntungkan maupun merugikan bagi manusia (Utami, 2023).

Dengan demikian, bakteriologi dapat dikatakan sebagai “biologi bagi bakteri” – ilmu yang mempelajari segala aspek kehidupan bakteri secara komprehensif. Secara garis besar, ruang lingkup ilmu bakteriologi meliputi struktur dan morfologi bakteri, pertumbuhan dan faktor-faktor yang memengaruhi pertumbuhan bakteri, klasifikasi serta identifikasi bakteri, hingga

pembahasan tentang berbagai bakteri patogen yang berpengaruh pada kesehatan manusia. Kajian-kajian tersebut menunjukkan bahwa bakteriologi merupakan dasar penting untuk memahami karakteristik setiap spesies bakteri, baik bakteri komensal yang bermanfaat maupun bakteri patogen penyebab penyakit.

1.1.2 Peran Bakteriologi dalam Ilmu Kesehatan dan Klinik

Dalam bidang ilmu kesehatan dan klinik, bakteriologi memiliki peranan yang sangat penting. Pengetahuan dalam cabang ilmu ini bermanfaat langsung dalam upaya pencegahan dan penanggulangan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Boleng, 2017).

Melalui studi bakteriologi, para ilmuwan dan tenaga kesehatan berhasil mengidentifikasi berbagai spesies bakteri patogen beserta karakteristiknya, sehingga dapat dikembangkan metode diagnosis penyakit yang akurat serta terapi pengobatan yang tepat. Di laboratorium mikrobiologi klinik, prinsip-prinsip bakteriologi diterapkan untuk mendeteksi keberadaan bakteri dalam berbagai sampel klinis (darah, urin, feses, sputum, dan lain-lain) melalui prosedur isolasi dan identifikasi bakteri penyebab infeksi (Kurniawan & Sahli, 2017).

Pemeriksaan bakteriologis semacam itu membantu dokter dalam menegakkan diagnosis penyakit infeksi secara etiologis (berdasarkan penyebabnya) dan menentukan pilihan pengobatan antimikroba yang efektif. Kemajuan di bidang bakteriologi juga berkontribusi besar dalam pengembangan tindakan

pencegahan penyakit. Sebagai contoh, penemuan berbagai vaksin efektif untuk mencegah infeksi bakteri (seperti vaksin difteri, tetanus, pertusis, tifoid, kolera, dan lain-lain) merupakan hasil dari pemahaman mendalam mengenai sifat-sifat bakteri patogen. Selain itu, riset bakteriologi telah memungkinkan ditemukannya antibiotik dan agen kemoterapi lainnya yang digunakan luas dalam terapi infeksi bakteri. Di sisi lain, bakteriologi juga berperan dalam menjaga higiene dan sanitasi lingkungan; misalnya, melalui pengujian kualitas air, makanan, dan udara secara bakteriologis untuk memastikan tidak tercemar oleh bakteri berbahaya. Dalam konteks kesehatan masyarakat, pengawasan bakteriologis semacam ini penting untuk mencegah wabah penyakit yang ditularkan oleh bakteri melalui media tersebut. Perlu ditekankan bahwa tidak semua bakteri bersifat merugikan. Bakteriologi juga mengungkap peran bakteri yang menguntungkan, baik bagi kesehatan manusia maupun dalam industri. Sebagai contoh, bakteri flora normal di usus manusia berperan membantu pencernaan dan sintesis vitamin K. Berbagai bakteri lainnya dimanfaatkan dalam bioteknologi dan industri farmasi, misalnya untuk produksi insulin, vitamin, antibiotik, dan vaksin melalui rekayasa genetika. Dengan memahami bakteriologi, tenaga kesehatan dapat memanfaatkan peran positif bakteri (misalnya penggunaan probiotik dalam terapi) sekaligus mengendalikan bakteri patogen agar tidak menimbulkan penyakit (Utami, 2023).

Secara keseluruhan, peran bakteriologi di bidang klinik mencakup diagnosis laboratorium, terapi antimikroba, pencegahan infeksi (melalui vaksinasi dan

sterilisasi), serta penjaminan mutu lingkungan agar bebas dari kontaminasi bakteri yang membahayakan.

1.1.3 Hubungan dengan bidang lain: Mikrobiologi Umum, Parasitologi, Mikologi, dan Virologi

Hubungan dengan Bidang Ilmu Lain (Mikrobiologi Umum, Parasitologi, Mikologi, dan Virologi). Bakteriologi merupakan salah satu cabang dari ilmu mikrobiologi. Mikrobiologi sendiri adalah ilmu yang mempelajari mikroorganisme secara umum, yang mencakup berbagai kelompok makhluk hidup mikroskopis seperti bakteri, virus, jamur, protozoa, dan mikroorganisme lainnya. Seiring perkembangan ilmu pengetahuan, mikrobiologi berkembang menjadi sejumlah sub-disiplin spesialisasi yang lebih fokus. Bakteriologi adalah sub-disiplin yang fokus pada bakteri, sementara sub-disiplin lain dalam mikrobiologi antara lain: virologi (ilmu tentang virus), mikologi (ilmu tentang jamur/fungi), dan parasitologi (ilmu tentang parasit, termasuk protozoa dan cacing parasit) (Padoli, 2016). Adapun istilah Mikrobiologi Umum biasanya mengacu pada kajian mikrobiologi dasar yang mencakup prinsip-prinsip umum berbagai mikroorganisme. Mikrobiologi umum memberikan landasan pengetahuan tentang morfologi, fisiologi, genetika, dan ekologi mikroorganisme secara luas, yang menjadi dasar bagi cabang-cabang spesialisasi seperti bakteriologi dan lainnya (Rini & Rohmah, 2020). Sebagai cabang-cabang dalam mikrobiologi, bakteriologi, parasitologi, mikologi, dan virologi memiliki keterkaitan erat. Keempat bidang ini sama-sama mempelajari organisme penyebab penyakit menular pada manusia (mikroba patogen), namun dengan fokus pada jenis

organisme yang berbeda. Dalam konteks laboratorium diagnostik dan pelayanan kesehatan, pemahaman yang terpadu tentang keempat bidang tersebut sangat diperlukan. Misalnya, seorang analis kesehatan atau dokter spesialis mikrobiologi klinik harus mampu mengenali perbedaan antara infeksi yang disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, atau parasit. Meskipun bakteriologi berfokus pada bakteri, pengetahuan parasitologi diperlukan untuk mendiagnosis penyakit akibat protozoa atau cacing, mikologi diperlukan untuk infeksi jamur, dan virologi untuk infeksi virus. Dengan demikian, bakteriologi berhubungan komplementer dengan parasitologi, mikologi, dan virologi dalam kerangka ilmu mikrobiologi medis. Semua cabang ini bersama-sama berkontribusi pada pemahaman menyeluruh mengenai agen-agen penyebab penyakit infeksi, mekanisme penularan, patogenesis, serta strategi pencegahan dan penanganannya di dunia kesehatan.

1.2 Sejarah Perkembangan Ilmu Bakteriologi

Ilmu bakteriologi berkembang melalui serangkaian penemuan penting sejak abad ke-17 hingga akhir abad ke-19. Perkembangan ini ditandai oleh ditemukannya mikroorganisme dan lahirnya pemahaman bahwa mikroba dapat menyebabkan penyakit, yang berpuncak pada revolusi teori kuman sebagai paradigma baru dalam ilmu kesehatan.

Antonie van Leeuwenhoek (1632–1723) – Sejarah bakteriologi dimulai pada tahun 1670-an ketika Antonie van Leeuwenhoek menjadi orang pertama yang mengamati kehidupan mikroskopis. Menggunakan mikroskop lensa tunggal sederhana rancangannya

sendiri, ia melihat berbagai “animalcules” (makhluk hidup mikroskopis) dalam tetesan air dan plak gigi. Observasi Leeuwenhoek ini merupakan bukti pertama keberadaan bakteri serta dunia mikroorganisme yang tak kasatmata. Ia secara tekun mendokumentasikan temuannya; selama hampir 50 tahun, Leeuwenhoek mengirim lebih dari 300 surat kepada Royal Society di London, berisi deskripsi berbagai mikroorganisme (termasuk bakteri dan protozoa) yang ia amati dengan mikroskop sederhana tersebut. Atas jasanya, ia kerap dijuluki Bapak Mikrobiologi, karena berhasil membuka wawasan ilmiah tentang kehidupan jasad renik untuk pertama kalinya (Boleng, 2015).

Louis Pasteur (1822–1895) – Hampir dua abad setelah penemuan Leeuwenhoek, pandangan ilmiah masih didominasi teori generatio spontanea (abiogenesis) yang beranggapan mikroorganisme dapat muncul secara spontan. Louis Pasteur, seorang ahli kimia Prancis, memainkan peran kunci dalam mematahkan anggapan ini. Ia menemukan bahwa proses fermentasi disebabkan oleh aktivitas mikroba tertentu dan mengembangkan metode pasteurisasi untuk mengawetkan bahan pangan dengan membunuh mikroba penyebab kebusukan. Pada tahun 1861, Pasteur melakukan eksperimen labu berleher angsa berisi kaldu nutrien yang disterilkan. Kaldu tersebut dibiarkan terbuka melalui leher tabung panjang berbentuk S, yang memungkinkan udara masuk tetapi menangkap partikel debu di lekukannya. Hasil percobaan menunjukkan kaldu tetap steril selama leher angsa tidak dipatahkan, yang membuktikan bahwa tidak ada kehidupan mikroba yang muncul dengan sendirinya dari kaldu steril. Temuan ini mengguncang dunia sains

saat itu dengan menolak teori abiogenesis dan menegaskan prinsip biogenesis – bahwa kehidupan (termasuk mikroorganisme) berasal dari kehidupan sebelumnya, bukan muncul spontan. Pasteur selanjutnya mengemukakan teori kuman penyakit, yakni gagasan bahwa penyakit disebabkan oleh mikroorganisme. Ia membuktikannya antara lain dengan penelitian penyakit pada ulat sutera serta pengembangan vaksin untuk beberapa penyakit. Melalui eksperimen klasiknya, Pasteur berhasil menghasilkan vaksin anthrax (1881) dan rabies (1885) dari mikroba yang dilemahkan, sehingga membuka jalan bagi upaya pencegahan penyakit menular melalui vaksinasi (Amelia, 2017).

Robert Koch (1843–1910) – Tokoh penting berikutnya adalah Robert Koch, seorang dokter asal Jerman yang dianggap sebagai pendiri bakteriologi modern. Koch berjasa membangun dasar metodologi untuk membuktikan bahwa mikroba tertentu menyebabkan penyakit pada manusia maupun hewan. Pada tahun 1876, ia berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi *Bacillus anthracis* sebagai penyebab penyakit antraks, yang sekaligus menjadi bukti pertama hubungan langsung antara bakteri dan penyakit. Penemuan ini disusul dengan keberhasilannya mengidentifikasi bakteri penyebab tuberkulosis (*Mycobacterium tuberculosis*) pada 1882 dan kolera (*Vibrio cholerae*) pada 1883. Untuk memformalkan pembuktian hubungan kausal tersebut, Koch mempublikasikan empat kriteria yang dikenal sebagai Postulat Koch pada tahun 1884. Postulat Koch memberikan syarat ilmiah:

- a) mikroorganisme yang dicurigai harus selalu ditemukan pada individu yang sakit dan tidak pada yang sehat,
- b) mikroba tersebut dapat diisolasi dan dibiakkan dalam kultur murni,
- c) inokulasi kultur murni ke hewan sehat harus menimbulkan penyakit yang sama, dan
- d) mikroba yang sama dapat direisolasi dari hewan yang sakit baru tersebut. Prinsip inilah yang menjadi pedoman untuk membuktikan etiologi suatu penyakit infeksi.

Selain itu, Koch mengembangkan berbagai teknik laboratorium, termasuk metode kultur murni pada medium padat dan teknik pewarnaan bakteri, untuk mempermudah identifikasi dan observasi patogen. Inovasi-inovasi Koch – beserta Postulat Koch – meletakkan fondasi kuat bagi ilmu bakteriologi dan mikrobiologi klinis, sehingga berbagai penyakit infeksi dapat diteliti penyebabnya dengan lebih terarah (Padoli, 2016). Penemuan oleh Pasteur dan Koch menandai babak baru dalam sejarah ilmu biomedis yang dikenal sebagai revolusi teori kuman. Pada akhir abad ke-19, komunitas ilmiah akhirnya menerima bahwa mikroorganisme-lah penyebab berbagai penyakit menular, menggantikan teori miasma dan abiogenesis yang sebelumnya dominan..ac.id

Revolusi konsep ini mendorong kemajuan pesat dalam praktik kedokteran dan kesehatan masyarakat: prosedur aseptis dan sterilisasi mulai diterapkan untuk mencegah infeksi, vaksinasi dikembangkan untuk melindungi dari penyakit, dan laboratorium bakteriologi

didirikan di berbagai tempat untuk mengisolasi serta mengidentifikasi patogen penyebab penyakit. Periode akhir 1800-an hingga awal 1900-an ini kerap disebut sebagai Masa Keemasan Mikrobiologi, ditandai dengan lahirnya disiplin bakteriologi sebagai ilmu yang kokoh dan bermunculannya penemuan-penemuan mikrobiologi penting yang terus membentuk praktik kedokteran modern (Putri dkk., 2017).

1.3 Klasifikasi dan Struktur Bakteri

1.3.1 Klasifikasi umum bakteri (Gram positif/negatif, bentuk morfologi)

Klasifikasi Gram: Bakteri dikelompokkan berdasarkan hasil pewarnaan Gram. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan tebal (puluhan nanometer) yang menahan pewarna primer (ungu), sehingga setelah proses pewarnaan Gram terlihat berwarna ungu. Selain peptidoglikan, dinding sel Gram positif mengandung asam teikoat yang memperkuat dinding sel. Sebaliknya, bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel dengan lapisan peptidoglikan tipis dan membran luar tambahan yang mengandung lipopolisakarida (LPS). Membran luar ini berfungsi melindungi sel dari kondisi lingkungan eksternal. Akibat perbedaan struktur tersebut, bakteri Gram negatif kehilangan warna primer saat dekolonisasi dan menyerap pewarna tandingan (safranin) sehingga tampak merah muda (pink) pada mikroskop Gram.

Bentuk Morfologi: Bakteri juga diklasifikasikan berdasarkan bentuk selnya. Tiga bentuk dasar bakteri adalah kokus (bulat), basil (batang), dan spiral (termasuk vibrio sebagai basil melengkung)

- Kokus (Coccus): Bentuk bulat. Kokus dapat muncul sendiri (monokokus) atau tersusun berpasangan (diplokokus, misalnya *Neisseria gonorrhoeae*), berbentuk rantai (streptokokus, seperti *Streptococcus pneumoniae*), berkelompok empat (sarkina), atau membentuk gugus mirip buah anggur (stafilokokus, misalnya *Staphylococcus aureus*).
- Basil (Bacillus): Bentuk batang lurus. Basil sering membentuk rantai (streptobasil) atau pasangan (diplobasil) seperti *Bacillus anthracis* dan *Clostridium tetani*.
- Vibrio: Bentuk batang melengkung (seperti koma). Misalnya *Vibrio cholerae* (Gram negatif) yang menyebabkan kolera.
- Spiral (Spiroseta): Bentuk memanjang melengkung. Terbagi menjadi spirillum (spiral kaku) dan spiroseta (spiral fleksibel). Contoh spiroseta Gram negatif adalah *Treponema pallidum* atau *Borrelia burgdorferi* (penyebab sifilis dan penyakit Lyme)

Tabel 1. 1 Contoh Bakteri berdasarkan Status Gram dan Bentuk Sel

Morfologi	Gram Positif (contoh genus)	Gram Negatif (contoh genus)
Kokus (bulat)	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i>	<i>Neisseria</i> , <i>Moraxella</i>
Basil (batang)	<i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i>	<i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Pseudomonas</i>
Vibrio (melengkung)	- (jarang)	<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Campylobacter</i>

Morfologi	Gram Positif (contoh genus)	Gram Negatif (contoh genus)
Spiral (lentur)	–	<i>Treponema, Borrelia</i> (spiroseta)

1.3.2 Struktur sel bakteri dan fungsinya: dinding sel, kapsul, flagela, pili, endospora

Struktur Sel dan Fungsinya: Bakteri prokariot memiliki struktur dasar mirip pada Gram positif maupun negatif, yaitu kromosom tunggal tanpa membran inti, plasmid ekstra-kromosom, dan dinding sel berpeptidoglikan. Namun perbedaan utama adalah ketebalan peptidoglikan dan keberadaan membran luar pada Gram negatif. Struktur tambahan yang penting dan fungsinya dirangkum dalam Tabel berikut. Misalnya, dinding sel mempertahankan bentuk sel dan mencegah lisis osmotik, kapsul polisakarida melindungi bakteri dari fagositosis dan meningkatkan virulensi (contoh *Pneumococcus*), flagela filamen protein berfungsi sebagai alat gerak yang memutar sel, pili (fimbriae) pendek berperan dalam adhesi sel dan dalam konjugasi (transfer DNA), endospora terbentuk pada kondisi ekstrem (panas, kering, bahan kimia) untuk melindungi materi genetik pada genus *Bacillus* dan *Clostridium* dan struktur intraseluler seperti ribosom 70S berfungsi sebagai pusat sintesis protein serta plasmid sebagai DNA kecil pembawa sifat tambahan (misalnya resistensi antibiotik). Struktur-struktur tersebut secara rinci dijelaskan pada Tabel 1.2 di bawah ini.

Tabel 1. 2 Struktur-struktur Sel

Struktur Sel	Fungsi Utama
Dinding Sel	Menentukan bentuk sel dan melindungi dari lisis osmotik; berisi peptidoglikan (Gram+ tebal, Gram-tipis) yang merupakan kerangka utama dinding sel.
Membran Plasma	Permeabel-selektif, mengatur keluar-masuknya nutrisi dan ion; tempat berlangsungnya proses metabolik (respirasi, transport).
Kapsul (Glikokaliks)	Lapis luar lendir polisakarida/protein yang melekat di permukaan sel; melindungi bakteri dari fagositosis host dan kekeringan, serta berperan dalam virulensi (mis. <i>Streptococcus pneumoniae</i> memiliki kapsul penting untuk infeksi).
Flagela	Filamen panjang (protein flagelin) berfungsi sebagai alat gerak bakteri; flagela berputar seperti baling-baling sehingga sel dapat bergerak aktif.
Pili/Fimbriae	Filamen pendek berfungsi untuk adhesi ke permukaan sel lain atau jaringan inang, serta beberapa pili (pili seks) terlibat dalam konjugasi/transfer plasmid antarbakteri.

Struktur Sel	Fungsi Utama
Endospora	Fase dorman berselubung tebal yang terbentuk pada kondisi ekstrem (panas tinggi, kekeringan, radiasi); sangat tahan panas dan zat kimia, memungkinkan bakteri (genus <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i>) bertahan lama dalam kondisi merugikan.
Ribosom	Kompleks RNA-protein 70S (30S + 50S) tempat sintesis protein berdasarkan informasi mRNA.
DNA (Nukleoid)	Materi genetik utama berupa DNA sirkuler tunggal yang mengkode semua fungsi sel (genom bakteri).
Plasmid	DNA sirkuler ekstra-kromosom kecil yang dapat bereplikasi mandiri; membawa gen tambahan non-esensial (misalnya gen resistensi antibiotik, toksin) yang dapat meningkatkan kemampuan adaptif bakteri.

1.4 Pertumbuhan dan Reproduksi Bakteri

Pertumbuhan bakteri merupakan peningkatan ukuran populasi bakteri yang terjadi akibat proses pembelahan sel. Dalam konteks mikrobiologi, pertumbuhan tidak merujuk pada bertambahnya ukuran sel tunggal, tetapi lebih pada bertambahnya jumlah total sel dalam suatu populasi (Madigan *et al.*, 2019). Agar

proses ini dapat berlangsung optimal, diperlukan kondisi lingkungan dan nutrisi yang sesuai.

1.4.1 Syarat pertumbuhan bakteri (nutrisi, suhu, pH, oksigen)

Pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor fisik dan kimia, di antaranya:

- **Nutrisi:** Bakteri memerlukan makronutrien (C, H, O, N, S, P, K, Mg, Ca, Fe) serta mikronutrien (logam berat dalam jumlah kecil seperti Zn, Mn, Co) untuk membentuk komponen sel dan menjalankan fungsi metabolisme (Kuswiyanto, 2015).
- **Suhu:** Berdasarkan kisaran suhu optimalnya, bakteri dikelompokkan menjadi:
 - Psikrofilik: tumbuh optimal pada 0–20°C
 - Mesofilik: tumbuh optimal pada 20–45°C (termasuk sebagian besar patogen manusia)
 - Termofilik: tumbuh optimal di atas 45°C (Pasquina-Lemonche *et al.*, 2020)
- **pH:** Mayoritas bakteri tumbuh optimal pada pH netral (6,5–7,5). Bakteri asidofilik tumbuh di pH rendah (mis. *Lactobacillus*), sedangkan alkali-toleran bertahan di lingkungan basa.
- **Oksigen:** Berdasarkan kebutuhan terhadap oksigen, bakteri diklasifikasikan menjadi:
- **Aerob obligat:** memerlukan oksigen (mis. *Mycobacterium tuberculosis*)
- **Anaerob obligat:** tumbuh tanpa oksigen (mis. *Clostridium botulinum*)

- Anaerob fakultatif: tumbuh baik dengan atau tanpa oksigen (mis. *E. coli*)
- Mikroaerofil: memerlukan oksigen dalam jumlah rendah (Suryani & Taupiqurrahman, 2021)
- Tekanan osmotik: Bakteri umumnya tumbuh optimal pada lingkungan isotonik. Bakteri halofilik mampu bertahan dalam kondisi hipertonik dengan kadar garam tinggi (Madigan *et al.*, 2019).

1.4.2 Fase pertumbuhan (lag, log, stasioner, kematian)

Populasi bakteri dalam kultur tertutup (batch) melalui empat fase pertumbuhan karakteristik: lag, eksponensial (logaritmik), stasioner, dan kematian. Pada fase lag terjadi adaptasi sel terhadap medium baru (sintesis enzim dan materi inti), sehingga jumlah sel tampak stagnan. Setelah itu terjadi fase eksponensial di mana sel membelah secara aktif (pembelahan biner) dengan laju konstan, sehingga jumlah sel meningkat eksponensial. Contohnya, *E. coli* dapat menggandakan populasinya setiap ~20 menit pada kondisi optimum. Selanjutnya, fase stasioner tercapai ketika nutrisi mulai menipis atau limbah menumpuk; laju pembelahan sel mendekati laju kematian sehingga jumlah sel total mendatar. Terakhir adalah fase kematian, di mana jumlah sel hidup menurun karena kekurangan nutrisi dan akumulasi zat racun. Pertumbuhan populasi bakteri dalam media kultur cair dapat digambarkan dalam empat fase utama:

- a) Fase Lag (Adaptasi): Sel belum membelah tetapi sedang mempersiapkan metabolisme. Aktivitas

enzimatis dan sintesis protein meningkat. Lamanya tergantung jenis bakteri dan kondisi media (Koudokpon *et al.*, 2024).

- b) Fase Log (Eksponensial): Sel membelah secara aktif dan pertumbuhan terjadi sangat cepat. Waktu generasi (waktu pembelahan) paling singkat di fase ini. Periode inilah yang paling optimal untuk analisis metabolik dan uji kepekaan antibiotik.
- c) Fase Stasioner: Nutrisi mulai menipis dan akumulasi produk toksik menghambat pertumbuhan. Jumlah sel yang membelah $\approx$ jumlah sel yang mati. Metabolisme mulai melambat.
- d) Fase Kematian: Kondisi lingkungan tidak lagi mendukung. Sel mengalami lisis atau mati karena kehabisan nutrisi dan akumulasi racun.

1.4.3 Reproduksi: pembelahan biner

Sebagian besar bakteri bereproduksi secara asexual melalui pembelahan biner, yaitu satu sel membelah menjadi dua sel anak identik secara genetik. Proses ini terdiri dari:

- a) Duplikasi DNA (replikasi kromosom sirkuler)
- b) Pemanjangan sel dan pemisahan kromosom
- c) Pembentukan septum (dinding pemisah)
- d) Pembelahan menjadi dua sel (Fivenson & Bernhardt, 2023)

Waktu yang dibutuhkan untuk satu siklus pembelahan disebut waktu generasi. Contohnya, *E. coli* dapat membelah setiap 20 menit dalam kondisi optimal.

Beberapa bakteri dapat pula mengalami proses sporulasi, transformasi, atau konjugasi, tetapi pembelahan biner tetap merupakan cara utama untuk memperbanyak diri.

DAFTAR PUSTAKA

- Boleng, Didimus Tanah. 2017. *Bakteriologi: Konsep-Konsep Dasar*. Malang: UMM Press.
- Cantón, R. (2005). Role of the microbiology laboratory in infectious disease surveillance. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(Suppl 3), 57–60. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01176.x>
- Fivenson, E.M., & Bernhardt, T.G. (2023). Bacterial stress responses to antibiotics. *Annual Review of Microbiology*, 77, 257–275. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115929>
- Koudokpon, H., Dougnon, V., Bankole, H., *et al.* (2024). Strengthening clinical bacteriology diagnostics in Benin. *Frontiers in Medicine*, 11:1281418. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1281418>
- Kuswiyanto. 2015. *Bakteriologi 1: Buku Ajar Analis Kesehatan*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., *et al.* (2019). *Brock Biology of Microorganisms*. 15th ed. Pearson Education.
- Ombelet, S., Ronat, J.B., Walsh, T.R., Yansouni, C.P., *et al.* (2018). Clinical bacteriology in low-resource settings: today's solutions. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(8), e248–e258. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30093-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30093-8)
- Padoli. 2016. *Mikrobiologi dan Parasitologi Keperawatan: Modul Bahan Ajar Cetak Keperawatan*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.

- Pasquina-Lemonche, L., Burns, J., Turner, R.D., Kumar, S., *et al.* (2020). The architecture of the Gram-positive bacterial cell wall. *Nature*, 582(7811), 294–297. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2236-6>
- Kurniawan, Fitria Budi & Indah Triana Sahli. 2017. *Bakteriologi: Praktikum Teknologi Laboratorium Medik*. Jakarta: EGC.
- Rini, Chylen Setiyo & Jamilatur Rohmah. 2020. *Buku Ajar Mata Kuliah Bakteriologi Dasar*. Sidoarjo: UMSIDA Press.
- Suryani, Yani & Taupiqurrahman, Opik. 2021. *Mikrobiologi Dasar*. Bandung: LP2M UIN Sunan Gunung Djati.
- Utami, Putra Rahmadea. 2023. *Pengantar Bakteriologi pada Penyakit Infeksi untuk ATLM*. Yogyakarta: Deepublish.

BAKTERIOLOGI:

Pendekatan Siklus Kerja Analisis Kesehatan

BAB 2

PENGAMBILAN DAN PENGOLAHAN SAMPEL

Oleh Ika Ristia Rahman

2.1 Jenis Sampel

Jenis sampel yang umum digunakan dalam pengujian bakteriologi meliputi sampel klinis, sampel lingkungan, sampel produk.

Sampel klinis atau biasa disebut dengan spesimen adalah pemeriksaan laboratorium yang ditujukan untuk mendiagnosis infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan fungi. Identifikasi bakteri dan fungi yang menginfeksi tubuh dapat diisolasi dari sumber berikut yaitu darah, cairan serebrospinal, urine, cairan sendi, rongga pleura. Selain sumber tersebut isolasi bakteri patogen yang berasal dari tubuh yang terinfeksi juga dapat menggunakan teknik apusan yang diambil dari bagian tubuh seperti saluran pernapasan, saluran pencernaan, luka dan kulit (Brooks, Butel and Morse, 2008).

Sampel lingkungan berupa tanah, air dan udara. Mikroorganisme terdapat di sekitar kita, selain sebagai bakteri patogen mikroorganisme juga memegang peranan penting dalam keseimbangan lingkungan (Pleczar and Chan, 2008).

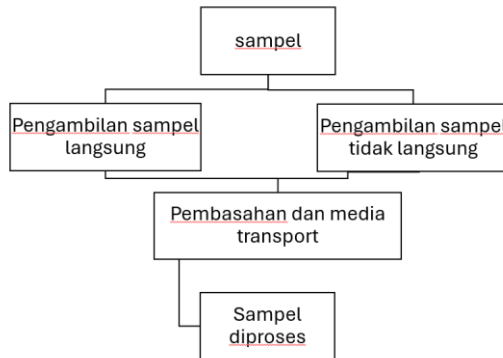
Sampel produk berupa pangan olahan baik makanan atau minuman yang diambil dan dianalisis guna melihat keamanan pangan. Keamanan pangan adalah kondisi upaya yang dilakukan untuk mencegah cemaran pada produk baik cemaran biologi, kimia atau benda lainnya yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan bagi konsumen (Badan POM RI, 2019).

2.2 Pengambilan sampel

Pengambilan sampel pengujian dibagi menjadi 2 metode, metode langsung dan tidak langsung.

Metode langsung adalah metode pengumpulan sampel sel langsung pada media yang kemudian di inkubasi. Peralatan yang digunakan *Contact plate*, *Dipslide* dan *petrifilm*.

Metode tidak langsung adalah pengumpulan sampel sel dengan melarutkan pada media baru dan diinkubasi. Peralatan yang digunakan meliputi, *swab* (usap), spons dan kasa/tisu (Rawlinson, Ciric and Green, 2019).



Gambar 2. 1 Prosedur Pengolahan Sampel

Setelah pengambilan sampel beberapa prosedur harus melalui pembasahan menggunakan larutan tertentu yang berfungsi untuk meningkatkan kelembapan dan pemulihan mikroorganisme. Larutan yang digunakan seperti *letheen broth*, larutan penyangga pepton, tween, larutan salin penyangga fosfat, larutan ringer. Media yang digunakan sebagai media *transport* adalah media *amies aerobik*, media *transport* universal *anaerobik*, larutan penyangga penetral. Media yang digunakan untuk membawa dan menyimpan sebelum proses pengujian dapat disesuaikan dengan mikroorganisme target (Galvin *et al.*, 2012; Rawlinson, Ciric and Green, 2019).

2.2 Pengolahan sampel

2.2.1. Sampel Klinis

Darah

Pengambilan sampel darah pada pengujian identifikasi dan mendeteksi adanya bakteri atau mikroorganisme lain dilakukan sebelum pemberian terapi antibiotik atau anti mikroba. Jumlah darah yang diambil dari vena 10ml untuk orang dewasa, 2-5 ml untuk anak-anak, 1-2ml untuk bayi dan neonatus. Sebelum dilakukan pengambilan sampel darah perlu dilakukan desinfeksi kulit pada vena yang akan diambil. Desinfeksi kulit menggunakan iodine tincture 2%, povidone iodine 10%, alcohol 70% (Vandepitte *et al.*, 2023).

Cairan Serebrospinal

Pengambilan cairan serebrospinal umumnya digunakan untuk mendeteksi infeksi meningitis. Spesimen atau sampel berstatus prioritas untuk segera diproses oleh petugas laboratorium. Volume pengambilan cairan serebrospinal sebanyak 5-10ml diambil oleh dokter dan ditampung pada dua tabung steril (Vandepitte *et al.*, 2023).

Urine

Pengambilan spesimen atau sampel urin digunakan dalam identifikasi, penegakan diagnosis dan pemilihan terapi antibakteri yang tepat dalam penanganan infeksi saluran kemih (ISK). Pengambilan sampel urine dapat menggunakan prosedur bedah seperti *aspirasi suprapubik*, *sistoskopi* dan *kateterisasi* (Vandepitte *et al.*, 2023), prosedur lainnya adalah pengambilan urine *Mid-stream clean catch* (Altuntas and

Alan, 2020). Pengumpulan sampel urine menggunakan wadah atau botol steril dengan mulut lebar. Sampel urine harus segera diproses maksimal penyimpanan 2 jam setelah pengumpulan, jika harus disimpan sampel urine disimpan dilemari pendingin dengan suhu 4°C dengan waktu penyimpanan sampel tidak lebih dari 18 jam. Pengumpulan sampel sebaiknya dikumpulkan pada pagi hari (Vandepitte *et al.*, 2023).

Tinja

Pengumpulan sampel tinja menggunakan wadah antibocor dapat berbentuk gelas kaca, plastik dengan sendok yang terpasang pada tutup. Banyaknya sampel 5gram tinja tidak boleh tercampur dengan urine. Sampel harus segera dikirim ke laboratorium jika tidak memungkinkan mengirim dalam waktu 2 jam maka perlu penambahan media transpor. Pada pengambilan sampel apusan rektum digunakan *swab* kapas steril. *Swab* kapas dimasukan pada sfingter rektal, putar dan tarik cek sampai terlihat noda, kemudian masukan *swab* kapas pada tabung steril untuk segera dilakukan pengujian. Jika sampel disimpan lebih dari 2 jam maka apusan sampel harus ditempatkan pada media *transport* (Vandepitte *et al.*, 2023).

Abses dan Luka

Pengambilan sampel pada abses digunakan jarum dan spuit steril. Jumlah sampel yang diambil sebanyak mungkin dan dipindahkan pada tempat steril. Jika tidak dipindahkan pada wadah penampung yang baru sampel tetap berada pada spuit dan segera dilakukan pengujian pada laboratorium. Pada luka lecet, luka tembus, luka pasca operasi, luka bakar dan ulkus

dekubitus menggunakan pedoman pembedahan. Potongan-potongan jaringan mati, pus diletakan pada kasa steril. Pus dan eksudat lainnya diambil dan disimpan pada tabung steril atau menggunakan *swab* kapas (Vandepitte *et al.*, 2023).

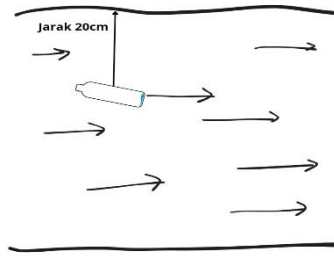
2.2.2. Sampel Lingkungan

Tanah

Pengujian sampel tanah digunakan untuk pengujian keragaman *mikrobioma*. *Mikrobioma* memiliki beberapa potensi manfaat secara farmakologi seperti anti bakteri dan anti oksidan. Pengambilan sampel tanah sebanyak 10 gram, jika tanah yang akan digunakan menempel di perakaran tanaman, ambil tanah dengan jarak 15cm dari permukaan tanah. Pengambilan tanah dilakukan secara aseptik. Tanah dapat diambil menggunakan skop atau peralatan yang digunakan adalah peralatan yang telah steril atau telah melalui prosedur desinfeksi (Sari, 2015; Atwita *et al.*, 2025).

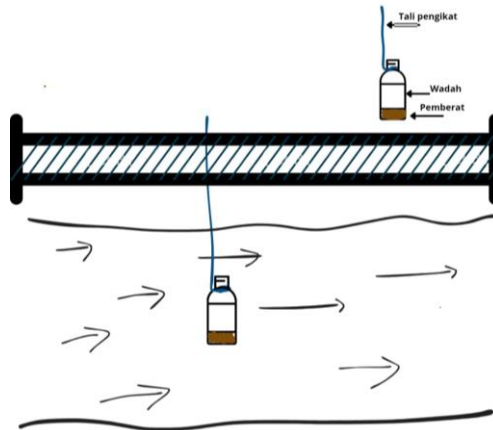
Air

Pengujian pada sampel air bertujuan untuk menguji parameter mikrobiologi air. Pengambilan sampel air berdasarkan sumber dari air yang akan di uji. Pada sampel yang bersumber dari air permukaan dan mengalir pengambilan sampel dapat dilakukan secara langsung dan menggunakan botol steril. Botol steril di masukan ke sumber air ± 20 cm dari permukaan dengan mulut botol di posisi berlawanan dengan aliran air, seperti pada gambar 1. Beri ruang pada botol $\pm 2,5$ cm dari mulut botol untuk proses pencampuran sebelum pengujian parameter (BSN, 2022).



Gambar 2. 2 Pengambilan Sampel Air secara Langsung

Pengambilan sampel uji air secara tidak langsung dapat menggunakan botol dengan diberi pemberat. Botol yang sudah steril dan diberi pemberat diturunkan perlahan sampai pada kedalaman tertentu. Botol yang telah terisi diberi ruang kosong sekitar $\pm 2,5$ cm dari mulut botol untuk proses pencampuran sebelum pengujian parameter (BSN, 2022).



Gambar 2. 3 Pengambilan Sampel Air Secara Tidak Langsung

Jika sumber air dari kran, tahap pertama adalah membersihkan mensterilkan mulut keran terlebih dahulu dengan alkohol 70%, jika kran terbuat dari logam dapat dibakar dengan suhu $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Kran yang telah steril dibuka dan dialirkan air selama satu sampai dua menit, kemudian tampung air dengan botol steril. Beri ruang kosong $\pm 2,5\text{cm}$ dari mulut tabung untuk pencampuran. Bakar mulut botol dan tutup botol untuk di lanjutkan untuk pengujian (BSN, 2022).



Gambar 2. 4 Pengambilan Sampel Air

Sampel air disimpan dalam kotak pendingin dengan suhu dingin dan terjaga tidak beku $<10^{\circ}\text{C}$. Batas maksimal waktu simpan sampel air sebelum di uji harus memenuhi

Tabel 2. 1 Batas Waktu Maksimal Penyimpanan Sampel Air

No	Sumber sampel uji	Batas maksimal waktu simpan
1	Air minum (kran)	30 jam
2	Air bersih untuk kehidupan sehari- hari	30 jam

No	Sumber sampel uji	Batas maksimal waktu simpan
3	Air limbah	6 Jam $\pm$ 2 jam
4	Sampel air dengan tujuan penegakan hukum	Segera, maksimal 8 jam

(Sumber: BSN, 2022)

Jika sampel air membutuhkan waktu perjalanan lebih dari 8 jam untuk pengujian maka pemantauan dan pencatatan suhu wajib dilakukan (BSN, 2022).

Udara

Pengambilan sampel uji mikrobiologi udara dimaksudkan untuk mengukur kualitas udara di suatu tempat atau wilayah kerja. Hasil pengujian dapat berupa jumlah bakteri atau jamur dinyatakan dalam CFU/m³. Pengujian kualitas udara dapat menggunakan metode pasif dan metode aktif. Metode pasif menggunakan cawan yang berisi media agar yang ditempatkan pada suatu titik/ lokasi kerja dengan prinsip partikel yang ada di udara akan mengendap pada media dengan waktu tertentu. Metode pasif memiliki keterbatasan yaitu hanya dapat mengukur jumlah mikroorganisme pada waktu pengambilan sampel, Pengambilan sampel udara dengan metode aktif bekerja dengan cara menarik udara ambien masuk pada alat tertentu. Metode aktif memiliki tiga metode *impingement* atau penumbukan partikel pada cairan, *impaction* atau penumbukan partikel pada benda padat dan *filtrasi* atau penyaringan. Penyimpanan sampel uji udara setelah pengambilan sampel

dimasukan kedalam ice box suhu dingin $<10^{\circ}\text{C}$ dengan batas simpan sampel 48jam (BSN, 2024).

Permukaan lingkungan (*environment surface*)

Pengambilan sampel pada permukaan lingkungan bertujuan untuk menilai hasil prosedur desinfeksi atau pembersihan suatu alat atau ruangan. Hasil uji berupa jumlah mikrobiologi dengan standar $<2,5\text{-}5\text{ CFU/cm}^2$. Metode yang di gunakan pada pengambilan sampel permukaan adalah metode *swab*, *spons*, *wipes* (seka), *Contact plate*, *Dipslide*, *petrifilm* (Rawlinson, Ciric and Green, 2019).

Pengumpulan sampel dengan metode *swab*/usap merupakan metode pengambilan sampel tidak langsung. Pengambilan sampel menggunakan alat yaitu kapas, rayon, kalsium aglinat, poliester *macrofoam* yang dibuat sesuai dengan keperluan. Keuntungan penggunaan metode *swab* dapat digunakan pada permukaan yang tidak rata dan sulit dijangkau seperti gagang pintu, pegangan tempat tidur pasien, wastafel, kran sedangkan kekurangannya adalah sulit dalam prosedur penyekaan seperti tekanan pada saat pengambilan sampel, luas area pengambilan sampel, sudut dan pola pada pengambilan sampel yang akan mempengaruhi hasil. Setelah *swab* digunakan *swab* dikemas pada wadah atau tabung steril untuk dilakukan proses selanjutnya (Rawlinson, Ciric and Green, 2019).



Gambar 2. 5 Swab Kapas

Spons merupakan alat pengambilan sampel pada permukaan yang dapat disesuaikan dengan kondisi permukaan. Spons dapat digunakan pada permukaan yang tidak rata, area yang luas dan pada saat pengambilan dapat diberikan sedikit tekanan pada permukaan. Spons dapat digunakan untuk mengumpulkan sampel dari permukaan kain, bantal *nylon* dan kursi plastik (Rawlinson, Ciric and Green, 2019).

Pengambilan sampel dengan metode seka menggunakan alat seperti kain, tisu dan kasa steril (gambar 6). Metode ini memerlukan teknik aseptik untuk menghindari peluang kontaminasi pada sampel. Setelah digunakan untuk pengambilan sampel kasa atau tisu yang digunakan segera dimasukkan ke wadah steril untuk dilakukan prosedur pengujian (Galvin *et al.*, 2012; Rawlinson, Ciric and Green, 2019).



Gambar 2. 6 Kasa Steril

Plat kontak (*Contact plate*) adalah alat pengambilan sampel secara langsung. Kontak plat adalah plat agar cembung yang digunakan secara langsung ditempelkan pada permukaan rata yang ditujukan untuk pengujian kuantitatif. Setelah ditempelkan di permukaan plat dilanjutkan prosedur inkubasi. Media agar yang digunakan dapat disesuaikan menggunakan agar selektif atau non selektif tergantung target mikroorganisme yang akan diidentifikasi. Jumlah koloni yang dihasilkan dinyatakan sebagai CFU/Unit area. Waktu kontak plat dan permukaan mempengaruhi hasil pengujian, waktu kontak selama 30detik (Galvin *et al.*, 2012).

Dipslide adalah alat yang digunakan pada pengambilan sampel langsung, memiliki prinsip yang hampir sama dengan *Contact plate*, *dipslide* memiliki bilah dengan dua sisi yang berisi media. Media yang digunakan dapat berisi media yang sama atau dapat diisi dengan media yang berbeda. Kedua sisi tersebut dapat

digunakan untuk pengambilan sampel pada tempat yang berbeda (Rawlinson, Ciric and Green, 2019)

Petrifilm merupakan media yang telah terimpregnasi pada lapisan yang tipis, yang dapat diaplikasikan dengan berbagai cara. Dapat dilakukan dengan usapan kapas atau langsung ditempel pada permukaan. Sebelum digunakan kertas lempengan dibasahi, kertas di tempelkan di permukaan lapisan kertas, tutup dan di inkubasi. Hasil dapat langsung dihitung. Metode ini banyak digunakan pada industri makanan selain metode yang cepat, sederhana dan dapat diaplikasikan pada banyak tempat (Rawlinson, Ciric and Green, 2019)).

2.2.3 Sampel Produk

Pengambilan sampel sebanyak 25 gam untuk sampel padat dan 25ml untuk sampel semi cair setelah itu sampel di tempatkan pada wadah steril untuk selanjutnya dilakukan pengujian. Untuk sampel daging, telur dan susu sebelum pengujian sampel dihomogenkan 225ml larutan penyangga posfat 0,1% steril (BSN, 2008).

Sampel sediaan farmasi, kosmetik dari bahan baku sampai produk jadi pegujian dilakukan untuk memastikan bahwa produk bebas dari spesies tertentu. Pada proses penyiapan sampel dan pengujian pada kondisi aseptis. Penyiapan sampel berbahan padat sebanyak 10gram dan sampel cair sebanyak 10ml. Untuk sampel berbahan padat sebelum pengujian dilakukan pengecilan partikel sampai berbentuk serbuk kemudian dilarutkan dengan pelarut tertentu sesuai dengan mikroorganisme yang akan diuji. Sampel bentuk

cairan dilarutkan dalam air atau cairan pembawa yang sesuai. Pada sampel cairan yang tidak larut dalam air seperti salep, krim, dan lilin maka sampel dilarutkan dengan penambahan emulgator steril seperti polisorbate. Pada sampel sediaan cair dalam bentuk *aerosol* maka wadah didinginkan pada campuran alkohol dan *dry* es selama ± 1 jam. Buka tutup sediaan hingga propelan menguap, pindahkan sejumlah sampel untuk pengujian (KEMENKES RI, 2020)

DAFTAR PUSTAKA

- Altuntas, N. and Alan, B. (2020) 'Midstream Clean-Catch Urine Culture Obtained by Stimulation Technique versus Catheter Specimen Urine Culture for Urinary Tract Infections in Newborns: A Paired Comparison of Urine Collection Methods', *Medical Principles and Practice*, 29(4), pp. 326–331. Available at: <https://doi.org/10.1159/000504443>.
- Atwita, S.Y. *et al.* (2025) 'View of Potensi Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan dari Senyawa Bioaktif Bakteri Tanah Asal Samarinda, Kalimantan Timur.pdf', *Jurnal Sumber hayati*, 11(2), pp. 63–73.
- Badan POM RI (2019) 'Penerapan Peraturan Badan POM tentang Cemarkan Mikroba dalam Pangan Olahan', *Direktorat Standarisasi Pangan Olahan Deputi Bidang Pengawasan Pangan Olahan Badan POM RI*, pp. 1–88. Available at: <https://standarpangan.pom.go.id/dokumen/pedoman/Pedoman-Penerapan-Peraturan-Badan-POM-Tentang-Cemarkan-Mikroba-dalam-Pangan-Olahan.pdf>.
- Brooks, G.F., Butel, J.S. and Morse, S.A. (2008) *Jawetz, Melnik & Adelberg*. Edisi 23. Jakarta: EGC.
- BSN (2008) 'SNI 2897:2008 Metode pengujian Cemarkan Mikroba Dalam Daging, Telur dan Susu, Serta Hasil Olahannya', *Badan Standarisasi Nasional* [Preprint]. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- BSN (2022) 'Sni 9063:2022 Metode Pengambilan Contoh Uji Air dan Air Limbah untuk Parameter

- Mikrobiologi'. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- BSN (2024) 'SNI 9099:2024 Metode Pengujian Faktor Biologi di Udara Tempat Kerja', *Badan Standarisasi Nasional* [Preprint]. Jakarta.
- Galvin, S. *et al.* (2012) 'Microbial monitoring of the hospital environment: why and how?', *Journal of Hospital Infection*, 82(3), pp. 143–151. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2012.06.015>.
- KEMENKES RI (2020) *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Edisi IV. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Pleczar, M.J. and Chan, E.C.. (2008) *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Rawlinson, S., Ciric, L. and Green, E.C. (2019) 'How to carry out microbiological sampling of healthcare environment surfaces? A review of current evidence', *Journal of Hospital Infection*, 103(4), pp. 363–374. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.07.015>.
- Sari, R.D. (2015) 'Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Tanah Yang Terdapat Di Sekitar Perakaran Tanaman', *Bio-site*, 01(1), pp. 21–27. Available at: <https://online-journal.unja.ac.id/BST/article/download/2989/2234/>.
- Vandepitte, J. *et al.* (2023) *Basic Laboratory Procedures in clinical Bacteriology*. 2nd Editio. Geneva: World Health Organisation. Available at: www.ijstr.org.
- .

BAB 3

KULTUR BAKTERI

Oleh Nita Andriani Lubis

3.1 Pendahuluan

Mikroorganisme terdapat dalam populasi yang besar dan beragam, mereka terdapat hampir dimana-mana di alam ini di udara, air, tanah, makanan, kotoran juga permukaan tubuh. Mikroorganisme termasuk bakteri ada yang menguntungkan dan merugikan. Bakteri dapat menyebabkan banyak penyakit untuk mengidentifikasi jenis bakteri harus dilakukan isolasi terlebih dahulu untuk identifikasi jenis bakteri tersebut (Cappuccino, 2013)

Bakteri merupakan organisme prokariotik berukuran mikroskopis. Struktur bakteri dengan komponen penting seperti dinding sel, membran plasma, sitoplasma, nukleoid, ribosom, flagela, pili, kapsul, endospora. Bakteri dapat dikenali dari sifatnya akan kebutuhan oksigen yaitu aerob obligat, anaerob obligat, anaerob fakultatif, dan mikroaerofilik; reproduksi bakteri secara asexual dengan pembelahan biner, transfer gen horizontal dibedakan menjadi transformasi, transduksi, dan konjugasi; metabolisme bakteri seperti fermentasi, respirasi aerob atau respirasi anaerob; sumber energi dari cahaya matahari (fototrof) atau kimia (kemotrof) (Irianto, 2014).

Hubungan bakteri dan infeksi tidak terlepas dari hubungan antara organisme sebagai tuan rumah (inang) dan bakteri sebagai penumpang (parasit). (Kultur bakteri merupakan salah satu teknik dasar yang sangat penting dalam bidang mikrobiologi klinik. Proses ini bertujuan untuk menumbuhkan dan mengisolasi bakteri dari berbagai spesimen klinis, seperti darah, urin, feses, sputum, dan cairan tubuh lainnya, dengan menggunakan media pertumbuhan yang sesuai. Teknik kultur ini memungkinkan identifikasi organisme penyebab infeksi dan membantu dalam penentuan sensitivitas antibiotik, sehingga sangat krusial dalam penegakan diagnosis dan penatalaksanaan penyakit infeksi.

Hubungan bakteri dan infeksi tidak terlepas dari hubungan antara organisme sebagai tuan rumah (inang) dan bakteri sebagai penumpang (parasit). (Santyasa, 2005). Kultur bakteri merupakan salah satu teknik dasar yang sangat penting dalam bidang mikrobiologi klinik. Proses ini bertujuan untuk menumbuhkan dan mengisolasi bakteri dari berbagai spesimen klinis, seperti darah, urin, feses, sputum, dan cairan tubuh lainnya, dengan menggunakan media pertumbuhan yang sesuai. Teknik kultur ini memungkinkan identifikasi organisme penyebab infeksi dan membantu dalam penentuan sensitivitas antibiotik, sehingga sangat krusial dalam penegakan diagnosis dan penatalaksanaan penyakit infeksi (Scott, Elvyn G; Bailey, 1974)

3.2 Persiapan Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan bakteri merupakan bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhannya. Bakteri memanfaatkan nutrisi media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Isolasi bakteri menggunakan media pertumbuhan menjadi kultur murni dengan memilih media yang tepat (Dinata, 2011)

Kultur bakteri diperlukan untuk mempelajari sifat bakteri untuk dapat mengadakan identifikasi, determinasi atau diferensiasi jenis-jenis yang ditemukan. Pertumbuhan bakteri tergantung pada pengaruh lingkungan seperti nutrisi, suhu, udara, pH cahaya, dan berbagai zat kimia yang dapat menghambat atau membunuh. Kebutuhan berbagai jenis bakteri masing-masing berbeda, ada yang mampu hidup pada lingkungan yang luas dan ada yang terbatas pada lingkungan sempit (Geo F Brooks; Janet S. Butel; Stephen A. Morse, 2008)

3.2.1 Media Pertumbuhan Bakteri

Media pertumbuhan dasar adalah media pembiakan sederhana yang mengandung zat-zat yang umum diperlukan oleh sebagian besar mikroorganisme, dan dipakai juga sebagai komponen dasar untuk membuat media pertumbuhan lain. Media ini dibuat dari ekstrak daging atau kaldu, pepton dan air serta penambahan agar nutrisi. (Sears, 2011).

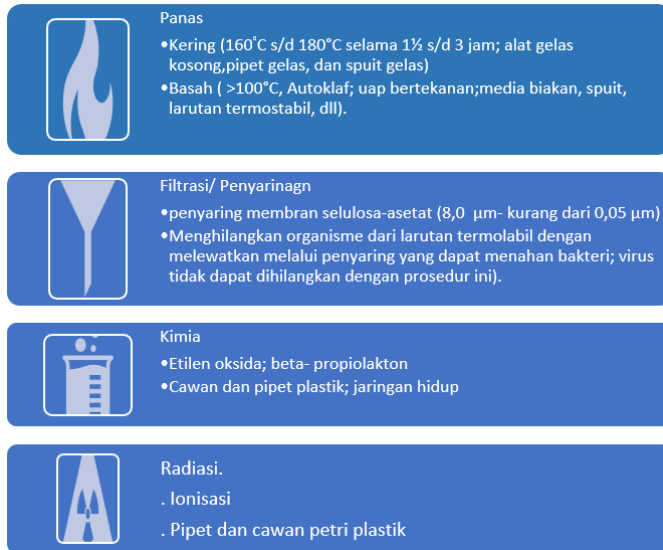
Mempersiapkan media pertumbuhan yang baik dengan memastikan peralatan yang akan digunakan bersih dan bebas dari sisa deterjen. Media dalam wadah

erlenmeyer, atau tabung reaksi pastikan ditutup dengan kapas dan aluminium foil untuk menghindari kontaminasi dari udara. Persiapan media yang tepat adalah langkah fundamental dalam kultur bakteri. Pemilihan jenis media harus disesuaikan dengan spesimen dan tujuan pemeriksaan. Dengan pemahaman terhadap komposisi media, teknik sterilisasi, serta inovasi media terbaru, ATLM dapat memastikan hasil kultur yang andal, akurat, dan sesuai standar mutu laboratorium klinik modern (Irianto, 2014)

3.2.2 Sterilisasi

Sterilisasi media adalah proses **menghilangkan semua bentuk kehidupan mikroorganisme** (termasuk spora) dari media pertumbuhan agar bebas kontaminan sebelum digunakan untuk kultur mikroba.

Sterilisasi adalah langkah **wajib dan krusial** sebelum media digunakan untuk menumbuhkan bakteri agar hasilnya valid dan tidak bias karena kontaminasi. Sterilisasi bisa dilakukan dalam berbagai cara diantaranya pemanasan, filtrasi atau metode kimia. Pemilihan metode sterilisasi sesuai dengan pemilihan media pertumbuhan yang akan digunakan (Sears, 2011)



Gambar 3. 1 Jenis Sterilisasi
(Sumber : (Cappucino, James G.; Sherman, 2002))

3.3 Metode Biakan Murni

Biakan murni adalah kultur yang mengandung satu jenis spesies bakteri saja, tanpa kontaminasi dari mikroorganisme lain. Tujuannya untuk mengamati sifat morfologi, fisiologi, dan biokimia bakteri secara spesifik dan akurat. Prinsip dasar Teknik biakan murni adalah **Pemindahan dan penanaman** bakteri dari sampel atau kultur campuran ke media pertumbuhan dengan cara tertentu untuk menghasilkan **koloni tunggal**, yang berasal dari satu sel bakteri induk. Dilakukan dengan **teknik aseptik** untuk mencegah kontaminasi (Irianto, 2014)(Scott, Elvyn G; Bailey, 1974).

Tujuan biakan murni dilakukan untuk memisahkan bakteri dari biakan campuran, menegakkan diagnosis bakteriologis, mengidentifikasi bakteri secara tepat, dan unruk menguji kepekaan antibiotik. Biakan murni diperlukan untuk mempelajari ciri-ciri koloni, sifat-sifat biokimia, morfologi, reaksi pewarnaan, reaksi imunologi, dan kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri. Pada umumnya biakan murni dapat diperoleh dengan cara-cara berikut.

Teknik Gores (Streak Plate Method)

Cara penggoresan dilakukan pada medium pembiakan padat bentuk lempeng. Metode pengerjaan Teknik cawan gores dengan membuat garis sebanyak mungkin pada permukaan media dengan menggunakan jarum ose.

Alat dan bahan yang digunakan media padat (Nutrient Agar, Blood Agar, MacConkey, dsb.), inokulum (dari sampel atau kultur), jarum inokulasi/ose loop, bunsen, spidol dan label.

Prosedur dilakukan dengan langkah-langkah berikut :

- Sterilkan ose di api Bunsen.
- Ambil sedikit inokulum.
- Goreskan ke permukaan media padat dalam pola zig-zag atau kuadran.
- Sterilkan ose setiap pergantian kuadran (jika teknik kuadran digunakan).
- Inkubasi media pada suhu dan waktu sesuai jenis bakteri.

Pola umum goresan yang dilakukan Teknik gores **kuadran** (4 bagian); Teknik **radial/sectoral**; Teknik **kontinuitas (continuous streak)**.

Teknik Tuang (Pour Plate Method)

Isolasi bakteri dengan cara tuang ini umumnya dilakukan untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri hidup dalam suatu cairan, seperti air, susu, atau urin. Hasilnya dinyatakan dalam jumlah koloni.

Alat dan bahan dalam Teknik tuang diantaranya media cair agar (nutrient agar leleh, $\pm 45^{\circ}\text{C}$), tabung kultur bakteri, cawan petri steril

Prosedur dilakukan dengan langkah-langkah berikut :

- Ambil suspensi bakteri dan lakukan pengenceran serial (jika diperlukan).
- Campurkan 1 mL suspensi bakteri ke dalam tabung berisi agar leleh.
- Tuang campuran ke cawan petri steril.
- Biarkan mengeras, lalu inkubasi.
- Hasil menunjukkan koloni tumbuh di dalam dan di permukaan agar.

Teknik Sebar (Spread Plate Method)

Isolasi bakteri metode sebar juga dilakukan untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri hidup dalam suatu cairan, perbedaannya dengan metode tuang adalah koloni yang tumbuh hanya pada permukaan media pertumbuhan saja.

Alat dan bahan yang digunakan dalam Teknik cawan sebar diantaranya cawan berisi media padat, suspensi bakteri (misalnya hasil pengenceran), preader (batang kaca L), alkohol dan api untuk sterilisasi

Prosedur dilakukan dengan langkah-langkah berikut :

- Teteskan 0,1 mL suspensi bakteri ke permukaan media padat.
- Sebarkan merata menggunakan spreader steril.
- Inkubasi pada suhu sesuai.

Tindakan aseptik adalah kunci utama Teknik biakan murni. Bekerja di dekat api bunsen dan sterilkan alat sebelum dan sesudah digunakan. Gunakan label yang jelas (tanggal, jenis sampel, media, dll). Inkubasi dilakukan sesuai karakteristik bakteri (misal: 35–37°C selama 18–24 jam). Setelah koloni tumbuh, pilih satu koloni yang paling khas untuk dilakukan pewarnaan Gram atau subkultur lanjutan (Scott, Elvyn G; Bailey, 1974)

3.3.1 Kultur Bakteri dari Sampel Darah

Kultur bakteri dari sampel darah dilakukan untuk mendeteksi **bakteremia atau sepsis**, khususnya pada infeksi sistemik. Menentukan agen penyebab infeksi sistemik seperti sepsis, endokarditis, dan demam tifoid. Prosedur kultur bakteri dilakukan mulai dari tahap persiapan, pengambilan sampel, Inkubasi awal, sub kultur lalu identifikasi dan uji lanjut.

Tahap Persiapan menggunakan botol kultur darah (aerob dan anaerob), lakukan sterilisasi area vena dengan alkohol 70% dan providone iodine. Lakukan

pengambilan sampel darah (dewasa 8-10 ml; anak 1-3 ml) dari vena dengan Teknik aseptik. Masukkan segera ke botol kultur, lalu inkubasi botol darah pada suhu 35 - 37°C selama 5-7 hari. Amati kekeruhan atau gas sebagai tanda pertumbuhan. Interpretasi hasil positif botol menunjukkan pertumbuhan (indikator warna/kekeruhan).

Hasil pengamatan positif yang ditandai dengan adanya kekeruhan dilanjutkan dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui bakteri termasuk dalam kelompok gram positif atau gram negatif. Subkultur dilakukan pada media padat, dengan memindahkan ke media pertumbuhan blood agar (bakteri gram positif); Mac Conkey agar (bakteri gram negatif); Chocolate agar (bakteri *Haemophilus*, *Neisseria*). Bakteri yang telah tumbuh diidentifikasi dengan melakukan uji biokimia/ automated identification (VITEK, MALDI-TOF) dan uji kepekaan antibiotik (Scott, Elvyn G; Bailey, 1974; (Cappuccino, 2013).

3.3.2 Kultur Bakteri dari Sampel Urin

Kultur bakteri dari sampel urin dilakukan dengan tujuan menegakkan diagnosis infeksi saluran kemih (ISK), dan untuk menentukan terapi antibiotik yang tepat. Langkah-langkah kultur bakteri dari sampel urin dimulai dengan persiapan, pengambilan sampel, inokulasi, Inkubasi, dan Interpretasi hasil.

Jenis sampel urin dibedakan menjadi :

- *Midstream clean-catch urine (midstream)*
- Kateter urine

- Suprapubik (khusus bayi)

Cara pengambilan sampel urin yang tepat disesuaikan dengan jenis sampel yang diperlukan. Sebelum pengambilan sampel harus didahului dengan edukasi tata cara pengambilan sampel. Langkah pertama pengambilan sampel adalah persiapan wadah sampel. Bersihkan area genital, dan ambil urin pertengahan (midstream) ke wadah steril. Volume urin yang diambil minimal 5 ml (Lubis *et al.*, 2020)

Penanaman bakteri dari sampel urin dilakukan dengan menggunakan pipet steril atau kalibrasi loop 0,001 ml/ 0,01 ml. Media pertumbuhan yang digunakan adalah Blood agar untuk media pertumbuhan umum dan MacConkey agar untuk gram negatif. Penanaman bakteri dilakukan dengan tindakan aseptik dan diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam.

Interpretasi hasil dilakukan perhitungan jumlah koloni dan dikonversi ke CFU/ml. Jumlah koloni $\geq 10^5$ CFU/mL diartikan infeksi signifikan; koloni 10^3 – 10^4 CFU/mL kemungkinan kontaminasi atau infeksi dini; dan $<10^3$ CFU/mL terjadi kontaminasi. Berdasarkan hasil interpretasi dilanjutkan dengan identifikasi dan uji resistensi. Identifikasi bakteri yang dilakukan seperti *Escherchia coli*, *Klebsiella sp.*, dan *Proteus sp* (Cappuccino, 2013;(Irianto, 2014).

3.3.3 Kultur Bakteri dari Sampel Sputum

Tujuan kultur bakteri dari sampel sputum dilakukan untuk mendeteksi bakteri penyebab infeksi saluran nafas bawah (ISPA, pneumonia, TB, bronchitis, dll). Prosedur kultur bakteri dilakukan mulai dari tahap

persiapan, pengambilan sampel, pemeriksaan kualitas sampel, inokulasi dan inkubasi awal, interpretasi hasil dilanjutkan identifikasi dan uji lanjut.

Proses pengambilan sampel dilakukan dengan memberikan edukasi terlebih dahulu terkait tata cara pengambilan sampel sputum. Pengambilan sputum dilakukan pada pagi hari sebelum makan/ minum, bersihkan mulut, lalu batukkan sputum dari saluran bawah ke wadah steril, dan hindari air liur. Sampel sputum dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan kualitas sampel (Lubis & Nasution, 2019).

Pemeriksaan mikroskopis awal yang dilakukan adalah pewarnaan gram. Hasil pewarnaan gram mengindikasikan banyak leukosit >25 dan sedikit epitel layak dilanjutkan untuk diperiksa. Sebaliknya banyak sel epitel >10 kemungkinan ada kontaminasi saluran atas. Penanaman bakteri dilakukan dengan menggunakan ose steril dengan tindakan aseptik. Penanaman untuk melihat pertumbuhan umum menggunakan media Blood agar, bakteri gram negative menggunakan media MacConkey agar. Media pertumbuhan Chocolate agar digunakan untuk inokulasi *Haemophilus influenzae*, *Neisseria sp.* Hasil inokulasi kemudian diinkubasi pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$, selama 24-48 jam. Khusus media chocolate agar inkubasi CO_2 (5-10%).

Interpretasi hasil dilakukan dengan mengamati koloni khas *Streptococcus pneumoniae* ditandai koloni alpha hemolitik, *Klebsiella pneumonia* ditandai koloni yang berlendir. Uji lanjutan dilakukan dengan pewarnaan gram, uji biokimia dan uji kepekaan terhadap antibiotik (Setiono, 2011; (Scott, Elvyn G; Bailey, 1974).

3.3.4 Kultur Bakteri dari Sampel Feces

Sampel feces dilakukan bertujuan untuk deteksi bakteri enterik patogen (*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* patogen, *Vibrio cholerae*, *Camphylobacter*, dsb). Prosedur kultur bakteri ini dimulai dari tahapan Persiapan, Pengambilan sampel, Inokulasi, Inkubasi dan Interpretasi hasil.

Pengambilan sampel dilakukan dengan edukasi cara pengambilan sampel yang baik. Siapkan wadah penampungan sampel dan dilakukan dengan langkah yang tepat. Feses segar diambil dengan volume kacang tanah dengan menggunakan swab. Sampel segera dikirim ke laboratorium untuk dilanjutkan pemeriksaan, jika memerlukan waktu >2 jam simpan pada suhu 2-8°C.

Sampel feces diinokulasi menggunakan ose atau swab ke media pertumbuhan padat dengan metode goresan langsung. Pemilihan media pertumbuhan bakteri dari sampel urin MacConkey agar untuk bakteri gram negatif; XLD agar dan Salmonella-Shigella agar media selektif untuk bakteri *Salmonella* dan *Shigella*; TCBS agar untuk bakteri *Vibrio cholerae*. Median pengayaan untuk bakteri *Salmonella* diberikan penambahan Selenite F broth/GN broth. Hasil inokulasi diinkubasi pada 35–37°C selama 18–24 jam. Pengamatan morfologi koloni dilakukan dan dilanjutkan pewarnaan gram.

Hasil diinterpretasi dengan pengamatan koloni khas bening dengan titik hitam (H_2S+) menunjukkan *Salmonella*; koloni bening tanpa H_2S (*Shigella*); koloni merah muda (laktosa fermenter di Mac Conkey (*E. coli*)). Uji lanjutan dilakukan dengan uji biokimia (TSI, LIA,

MRVP, dll) dan uji kepekaan antibiotik (Scott, Elvyn G; Bailey, 1974; (Irianto, 2014).

DAFTAR PUSTAKA

- Cappuccino, J. G. S. N. (2013). *Manual Laboratorium Mikrobiologi* (H. Manurung, July; Vidayanti (ed.); 8th ed.). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Cappucino, James G.; Sherman, N. (2002). *Manual Laboratorium Mikrobiologi* (8th ed.). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Dinata, D. I. (2011). *Bioteknologi* (J. Manurung (ed.)). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Geo F Brooks; Janet S. Butel; Stephen A. Morse. (2008). *Mikrobiologi Kedokteran* (M. A. Jewetz (ed.); 23rd ed.). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Irianto, K. (2014). *Bakteriologi Medis, Mikologi Medis, Dan Virologi Medis Panduan medis & klinis*. Alfabeta,cv.
- Lubis, N. A., & Nasution, G. S. (2019). Sputum Conversion is Faster with Vitamin D Supplementation in Pulmonary TB Patients. *Health Notions*, 3(11). <https://doi.org/10.33846/hn31103>
- Lubis, N. A., Siregar, G. P. H., & Ginting, M. (2020). The Relationship Between Body Mass Index and Urinary Creatinine in Adolescent Girls. *Buletin Farmatera*, 5(2), 208. <https://doi.org/10.30596/bf.v5i2.3325>
- Santyasa, I. W. (2005). Model Pembelajaran inovatif dalam implementasi kurikulum berbasis kompetensi. *Makalah Disampaikan Dalam Penataran Guru-Guru SMP, SMA, Dan SMK Se Kabupaten Jember* Juni–Juli.
- Scott, Elvyn G; Bailey, W. R. (1974). *Diagnostic Microbiology A testbook for the isolation and identification of pathogenic microrganisms* (4th ed.). The C.V. Mosby Company.

- Sears, B. W. ;Spea. L. S. R. (2011). *Intisari Mikrobiologi & Imunologi* (L. Santi (ed.)). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Setiono, A. (2011). Uji Diagnostik Pemeriksaan Immunochromatographic Tuberkulosis (ICT TB) Dibandingkan Dengan Pemeriksaan BTA Sputum Pada Tersangka Penderita TB Paru di RSUP Dr Kariadi Semarang. *Undip*.

BAKTERIOLOGI:

Pendekatan Siklus Kerja Analisis Kesehatan

BAB 4

IDENTIFIKASI BAKTERI

Oleh Luluk Aniqoh Meliana Putri

4.1 Pendahuluan

Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme yang mempunyai peran penting pada berbagai aspek kehidupan, mulai dari lingkungan, kesehatan, hingga industri. Sebagian bakteri berperan sebagai agen patogen yang menyebabkan penyakit, sementara yang lain memiliki kontribusi positif dalam proses bioteknologi, daur ulang nutrisi dan pencernaan. Oleh karena itu, kemampuan untuk mengidentifikasi bakteri dengan tepat menjadi hal yang sangat krusial dalam berbagai bidang, termasuk kedokteran, pertanian, lingkungan, dan industri makanan.

Identifikasi bakteri bukan hanya sekadar mengenali bentuk morfologinya di bawah mikroskop, tetapi juga melibatkan serangkaian metode yang kompleks, mulai dari pengamatan ciri-ciri fisiologis dan biokimia. Seiring berkembangnya teknologi, metode identifikasi semakin akurat dan efisien, memungkinkan peneliti untuk mengenali jenis dari mikroba dengan presisi tinggi. Proses identifikasi bakteri merupakan fondasi dari banyak kegiatan penelitian dan diagnosis.

4.2 Morfologi Bakteri

Bakteri adalah organisme yang mempunyai sel tunggal, yang mempunyai ukuran mikroskopik serta berkembang biak secara sederhana. Perkembangbiakan bakteri dilakukan dengan cara pembelahan biner. Secara umum bakteri memiliki dinding sel dan tidak mempunyai klorofil. Ukuran bakteri sangat kecil atau mikroskopik menyebabkan sukar untuk diamati secara jelas morfologi dan struktur lengkap dari organisme ini. Namun ukurannya jauh lebih besar apabila dibandingkan dengan virus. Sehingga dibutuhkan bantuan mikroskop Cahaya bahkan elektron agar berbagai struktur halus yang ada di luar serta di dalam sel bakteri bisa dilakukan pengamatan dengan jelas. Dengan bantuan dari mikroskop, bentuk sel bakteri dapat dengan mudah untuk diamati dengan mikrometer okuler. Satuan dari pengukuran sel bakteri yaitu mikron atau mikrometer (mm). (Parija, 2012).

1 mikron (μm) = 1/1000 milimeter (mm)

1 nanometer (nm) = 1/1000 mikron (μm)

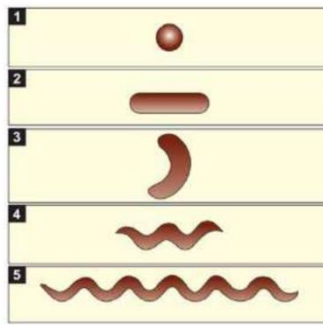
1 Angstrom unit ($\text{\AA}$) = 1/10 nanometer (nm)

Ukuran morfologi dari bakteri yang masih bisa dilihat dengan menggunakan mata telanjang hanya mencapai ukuran 100 μm . Sel bakteri umumnya memiliki ukuran Panjang 2,0 – 5,0 μm serta lebar nya berkisar antara 0,2 – 1,5 μm (Parija, 2012). Spesies bakteri patogenik memiliki ukuran 0,4 – 2 μm .

Pengamatan mengenai karakteristik morfologi dari koloni bakteri sangat penting untuk dilakukan, agar memudahkan pada proses identifikasi jenis suatu bakteri. Ciri-ciri morfologi dari koloni bakteri dan juga

biakan yang murni bisa dilanjutkan proses identifikasi jenis dari mikroorganisme. Tetapi, untuk mendapatkan hasil dari identifikasi yang sempurna sehingga diharuskan melanjutkan menggunakan pengujian metode biokimia.

Bakteri memiliki bentuk morfologi yang beragam yaitu batang (basil), bulat (kokus) dan spiral.



Gambar 4. 1 Bentuk morfologi bakteri

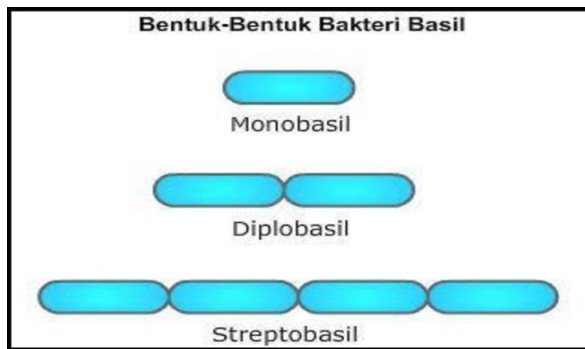
**1). Kokus, 2). Basilus, 3). Vibrio, 4). Spiral, 5).
Spirochaete (Sumber : Kumar, 2016).**

4.2.1 Bakteri dengan bentuk batang atau basil (*Bacillus*)

1. Bakteri bentuk batang atau basil dikelompokkan menjadi 3 jenis sel;
 - a. Monobasil (batang tunggal), merupakan bakteri yang memiliki bentuk satu batang yang tunggal, contoh nya yaitu *Salmonella typhi*, *Esheria coli*.
 - b. Diplobasil (berkelompok dua-dua), adalah penataan dari sel bakteri berbentuk batang yang memiliki kelompok dua-dua sela tau

berpasangan, contoh nya yaitu *Renibacterium salmoninarum*.

- c. Streptobasil (rantai batang), yaitu penataan sel bakteri basil yang membentuk rantai, contoh *Bacillus anthracis*, *Azotobacter sp.*



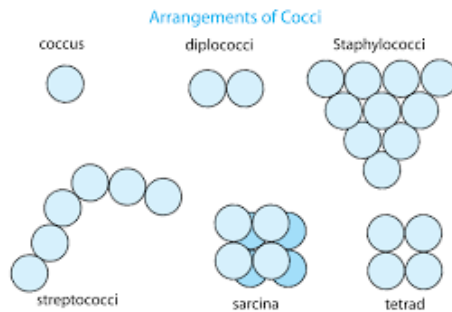
Gambar 4. 2 Basilus. 1. Monobasil, 2. Diplobasil, 3. Streptobasil

4.2.2 Bakteri bentuk bulat (*Coccus*)

Bakteri bentuk bulat dikelompokkan menjadi beberapa macam jenis sel;

- Monokokus, yaitu bakteri dengan bentuk bulat tunggal, contoh *Neisseria gonorrhoeae*
- Diplokokus (*Diplococci*), yaitu bakteri yang memiliki bentuk bulat yang bergandengan dua-dua, contohnya adalah *Diplococcus pneumonia*
- Sarkina, yaitu bakteri yang memiliki bentuk bulat berkelompok 8 sel atau lebih, bentuk bakteri mirip seperti kubus.

- d. Streptokokus, yaitu bakteri yang memiliki bentuk bulat membentuk rantai Panjang atau pendek, contohnya yaitu *Streptococcus mutans*
- e. Stafilocokus, adalah bakteri yang memiliki bentuk bulat yang membentuk koloni sekelompok sel yang tidak teratur dan memiliki bentuk mirip kumpulan anggur, contohnya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*



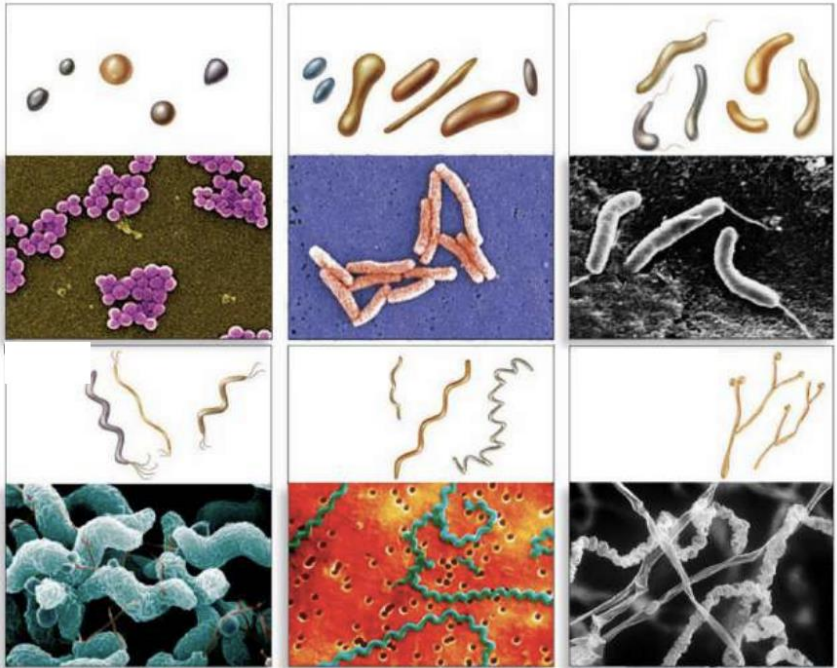
Gambar 4. 3. Bakteri Bentuk Bulat (*Coccus*)

4.2.3 Bakteri bentuk spiral

Bakteri bentuk spiral dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu;

- a. Spiral, kelompok bakteri yang bentuknya seperti spiral contohnya *Spirillum*
- b. Vibrio, merupakan bakteri berbentuk spiral tidak sempurna, contoh *Vibrio cholera*

- c. Spiroseta, yaitu kelompok bakteri yang memiliki bentuk spiral yang sifatnya lentur. Ketika bergerak bakteri dapat memanjang serta



n

ya *Teponema pallidum*

Gambar 4. 4 Bakteri Bentuk Spiral

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

4.3 Pewarnaan Bakteri

Tujuan dari pewarnaan bakteri ialah untuk memberi kemudahan pada pengamatan morfologi bakteri dengan menggunakan mikroskop agar ukuran dan bentuk bakteri dapat dilakukan identifikasi. Selain itu dapat juga berfungsi untuk mengamati struktur dalam serta struktur luar bakteri contohnya yaitu dinding sel, sifat fisik, vakuola serta kimia dari bakteri yang sangat khas menggunakan zat pewarna juga dengan peningkatan kontras dari mikroorganisme (Pelczar, 2008). Faktor yang diperlukan dalam pewarnaan bakteri yaitu :

1. Fiksasi

Fiksasi adalah proses **penetapan atau pengikatan mikroorganisme pada kaca objek (slide)** agar tidak hilang atau berubah posisi saat dilakukan pewarnaan dan pengamatan di bawah mikroskop. Fungsi dari fiksasi adalah : Globula-globula protein tidak dapat berkerut, amino primer menjadi lebih tinggi, afinitas pewarna dari bakteri terjadi perubahan, sel yang mengalami dapat dilakukan pencegahan, bakteri dapat di bunuh secara cepat dengan tidak mengubah struktur serta bentuknya, sel-sel berubah menjadi semakin kuat.

2. Substrat

Setiap pewarna bakteri dari asam atau pewarna bakteri basa mampu bereaksi dengan beberapa bahan tertentu. Sehingga, substrat organik seperti lipid, protein, asam nukleat serta karbohidrat dapat berpengaruh pada pewarnaan biologis.

3. Intensifikasi Pewarnaan

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

4. Pelunturan pewarna pada bakteri

Untuk bisa memperoleh hasil yang baik pada identifikasi menggunakan mikroskop, dilakukan pelunturan pada pewarna bakteri. Secara umum, sel-sel dari bakteri yang sukar diwarnai akan lebih sukar untuk dilakukan pelunturan warna, sebaliknya sel bakteri yang mudah untuk dilakukan pewarnaan akan mudah sekali untuk dilakukan pelunturan pewarnaan.

4.4 Jenis-Jenis Pewarnaan

Pewarnaan adalah teknik yang sering diterapkan dalam berbagai bidang, seperti seni, tekstil, biologi, dan kimia. Secara umum, pewarnaan bertujuan untuk memberikan warna pada suatu objek guna meningkatkan estetika, membedakan struktur, atau mempermudah proses identifikasi. Dalam konteks yang lebih spesifik, seperti menggunakan mikroskop atau histologi, pewarnaan digunakan untuk memperjelas tampilan sel atau jaringan sehingga memudahkan pengamatan struktur dan fungsinya. Jenis-jenis pewarnaan sangat beragam, dalam bidang biologi, dikenal beberapa jenis pewarnaan seperti, pewarnaan negatif, pewarnaan sederhana pewarnaan diferensial (Pewarnaan gram serta tahan asam), dan pewarnaan khusus yang digunakan mengamati struktur sel tertentu.

4.4.1. Pewarnaan Sederhana

Salah satu jenis dari prosedur pewarnaan yang bisa dilakukan ialah pewarnaan sederhana, Dimana terdapat satu pewarnaan yang dapat digunakan, serta semua jenis bakteri muncul sebagai warna dari pewarnaan yang digunakan, saat dilihat di bawah mikroskop. Beberapa pewarna yang biasa dipergunakan pada pewarnaan sederhana ialah kristal violet, safranin dan *metylen blue*. Pewarnaan sederhana bisa digunakan untuk penentuan morfologi serta susunan dari spesies bakteri, tetapi tidak dapat terdapat tambahan informasi. (Lee 2021).

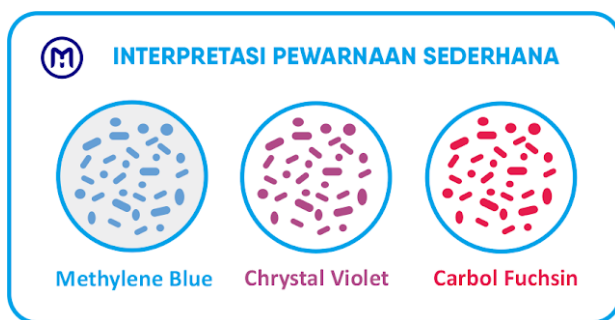
Tujuan dilakukannya pewarnaan sederhana ialah untuk penggambaran secara jelas dari morfologi sel bakteri, contohnya bentuk, ukuran serta susunan sel. Pada prinsipnya, pewarnaan sederhana memakai zat pewarna yang mempunyai sifat basa ataupun alkali. Secara kimiawi sifat basa mempunyai muatan positif (+) sehingga sangat mudah terjadi reaksi dengan dinding dari sel bakteri yang memiliki muatan yang negatif (-).

Komposisi serta hasil warna/ interpretasi dari pewarnaan sederhana sebagai berikut:

Tabel 4. 1 Komposisi Pewarnaan Sederhana

Nama Reagen	Warna Sel Bakteri	Komposisi
Methylen Blue	Biru	Methylen Blue 3 g, Etanol 95% 300 ml, Potassium Hidroksida 10% 1 ml.
Kristal Violet	Ungu	Kristal Violet 2 g, Amonium Oksalat 0,8 g, Etil Alkohol 95% 20 ml, Aquadest steril 100 ml

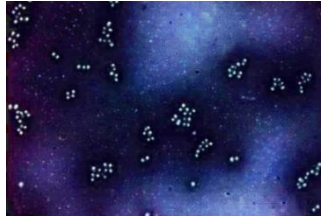
Nama Reagen	Warna Sel Bakteri	Komposisi
Carbol Fuchsin	Merah	Fuchsin dasar 0,3 g, Fenol 5 ml, Aquadest steril 95 ml, etanol 95% 10 ml,



Gambar 4. 5 Interpretasi Pewarnaan Sederhana

4.4.2 Pewarnaan Negatif

Pewarnaan negatif merupakan pewarna yang menggunakan pewarna yang asam sebagai pewarna yang utama, contohnya eosin ataupun tinta india. Pewarna negatif cenderung menjadikan latar belakang berwarna gelap serta tidak mewarnai dari sel bakteri. Hal ini dapat terjadi dikarenakan zat warna yang dipergunakan pada pewarnaan negatif ialah zat warna asam serta mempunyai komponen kromofor bermuatan negatif yang juga terdapat pada sitoplasma bakteri. Akibatnya zat pewarna tidak dapat terjadi penembusan ke dalam inti sel dari bakteri. Ketika diwarnai negatif, pada sel bakteri akan terlihat bening atau tidak berwarna (Madigan 2006).



Gambar 4. 6 Pewarnaan Negatif

4.4.3 Pewarnaan Differensial

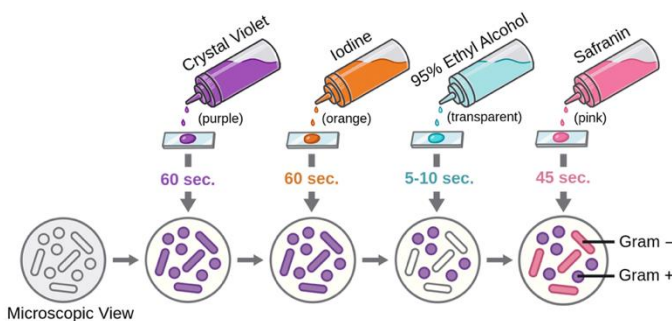
Pewarnaan yang memiliki tujuan untuk membandingkan antara bakteri satu dengan yang lainnya, Zat warna yang dipakai pada saat pewarnaan menggunakan beberapa macam zat warna.

a. **Pewarnaan Gram**

Pewarnaan gram pada pertama kalinya digunakan tahun 1884 oleh Hans Christian Gram. Ada 4 jenis reagen yang digunakan pada pewarnaan gram. Pewarna utama ialah kristal violet, memperjelas pewarna bakteri utama menggunakan larutan iodine, proses dekolorisasi menggunakan alkohol untuk menghilangkan pewarna utama dari sel, pewarna penutup menggunakan safranin. Safranin dipergunakan untuk mewarnai ulang sel yang kehilangan warna Kristal violet setelah dekolorisasi, pewarna harus berwarna kontras dengan warna utamanya (Bassiri, 2013).

Safranin merupakan pewarna yang dipergunakan pada saat pewarnaan bakteri yang menyebabkan bakteri yang berwarna merah pada bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif pada dinding sel bakteri mempunyai

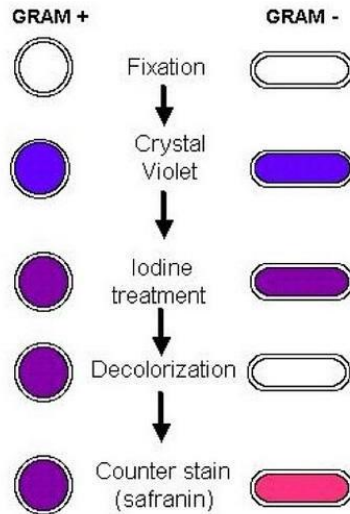
peptidoglikan yang tipis serta lapisan lemak yang cukup tebal, sehingga ikatan yang terjadi ialah ikatan lemah pada saat berikatan dengan gentian violet. Saat dilunturkan menggunakan alkohol hasilnya pewarna gentien violet akan luntur. Hal ini dapat menyebabkan bakteri melakukan penyerapan warna dari safranin yaitu merah dikarenakan bakteri tidak mampu menyerap pewarna utama (Campbell, 2012).



Gambar 4. 7 Pewarnaan Gram

Pada pewarnaan gram ada 2 jenis bakteri, yaitu Bakteri Gram positif serta Bakteri Gram negatif. Pada saat pewarnaan, bakteri gram positif menghasilkan berwarna ungu, sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah.

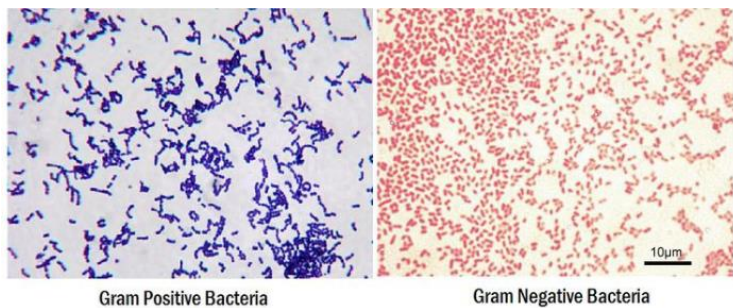
Pewarnaan gram adalah salah satu metode paling sederhana, mudah serta murah pada diagnosis cepat infeksi dari bakteri. Metode ini jauh lebih cepat apabila dibandingkan dengan kultur bakteri.



Gambar 4. 8 Prinsip Pewarnaan Gram

Contoh bakteri gram positif adalah *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Bacillus subtilis* dll.

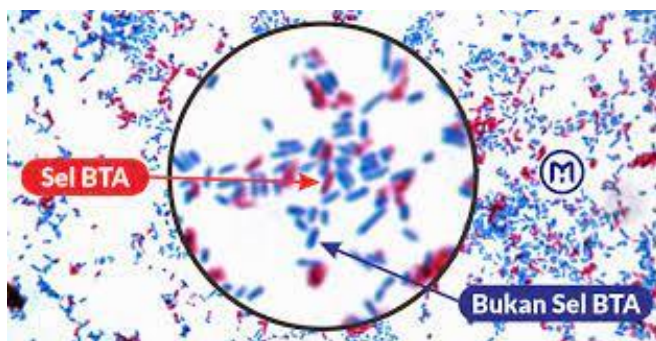
Contoh bakteri gram negatif adalah *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacteriaceae* dll.



Gambar 4. 9 Hasil Pewarnaan Bakteri dengan Gram Positif dan Gram Negatif

b. Pewarna Tahan Asam dengan Ziehl Neelsen

Pewarnaan *Ziehl Neelsen* adalah pewarnaan diferensial, merupakan pewarnaan yang mempergunakan lebih dari satu macam zat warna serta mampu membandingkan bakteri yang tahan asam dengan bakteri yang tidak tahan dengan asam (Adriyani, 2016). Mikroorganisme yang tahan terhadap asam membutuhkan teknik pewarnaan yang khusus. Pewarnaan pada bakteri tahan asam memerlukan 3 pereaksi diantaranya pewarna primer, senyawa pemucat dan pewarna tandingan. Pewarna primer yaitu Carbol fuchsin yang membuat sel menjadi warna merah. Senyawa pemucat adalah Asam-alkohol (HCl 3% + Etanol 95%) sebelum pemucatan apusan dilakukan pendinginan terlebih dahulu sehingga zat lilin sel akan mengeras, sedangkan pewarna tandingan ialah Metylen blue (Lee, 2021).



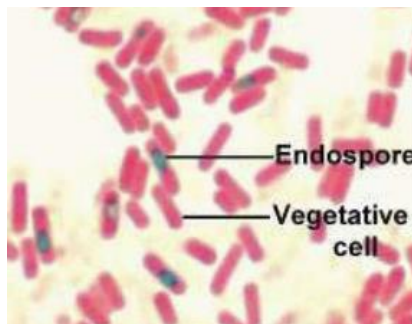
Gambar 4. 10 Hasil Pewarnaan Bakteri Tahan Asam

4.4.3 Pewarnaan Spora

Pada proses pertahanan diri dari kondisi yang tidak mendukung untuk kehidupan dari bakteri yang akan membentuk spora. Golongan dari bakteri yang dapat membentuk spora yaitu golongan dari *Bacillus* sp serta *Clostridium* sp (Purwaningsih, 2021). Terdapat 2 metode pewarnaan dari spora:

a. *Schaeffer Fulton*

Pemanasan perlu untuk dilakukan pada pewarnaan spora supaya zat warna bisa terserap ke dalam spora. Warna Hijau malakit (*malachite green*) adalah zat warna pertama yang akan mewarnai endospor menjadi warna hijau serta zat warna kedua akan mewarnai sel vegetatif berubah menjadi merah ialah safranin. Pada zat warna ini mudah terlepas pada waktu pencucian dengan air, dikarenakan tidak berikatan erat pada dinding sel serta sitoplasma. Sebaliknya spora tetap berwarna hijau pada saat pencucian menggunakan air karena air tidak bisa menembus dinding endospora.



Gambar 4. 11 Pengamatan Preparat Spora Bakteri

b. Klein

Pewarnaan dilakukan menggunakan pemanasan sehingga pori-pori pada dinding spora akan mengalami pembesaran serta zat-zat warna bisa masuk/ Suspensi bakteri dibuat dengan cara menambah 1,5 ml NaCl 0,9% steril pada tabung agar, dengan posisi miring. kemudian biakan dari bakteri dipindahkan ke tabung yang kosong dan steril, menambahkan karbol fuchsin dengan perbandingan suspensi bakteri (1:1) serta memanskan pada water bath dengan suhu 80°C dengan durasi 10 menit. Preparat ataupun sediaan suspensi di atas H₂SO₄ 1% diteteskkan selama 2 detik kemudian di cuci.

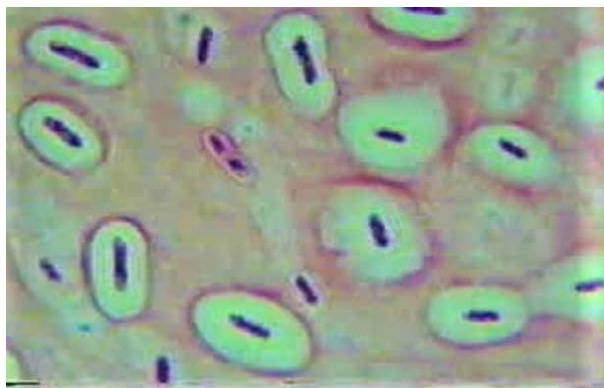
Kemudian di keringkan selama 2 detik serta dicuci, lalu dikeringkan menggunakan kertas saring. Kemudian diamati dibawah mikroskop menggunakan perbesaran lensa objek glass 100x. Hasil yang diperoleh adalah warna merah pada spora dan badan sel bakteri (Presscot, 2002).

4.4.5 Pewarnaan Kapsul

Pewarnaan kapsul adalah suatu Teknik yang dipergunakan untuk mengamati suatu bakteri apakah mempunyai kapsul pada tubuh bakteri. Lapisan polimer yang ada diluar dinding sel disebut kapsul. Bahan suatu kapsul sifatnya adalah larut dalam air dan bisa dilepaskan ataupun dihilangkan dengan melakukan pembilasan sehingga pewarnaan kapsul lebih sulit apabila dibandingkan menggunakan jenis prosedur pewarnaan differensial lainnya. Artefak bisa terbentuk apabila apusan dipanaskan. Hal ini bisa terjadi

dikarenakan terjadi penyusutan dari sel yang dihasilkan bisa membentuk suatu zona jernih pada sekitar organisme dan terlihat seperti kapsul. Kristal violet adalah pewarna primer dan senyawa pemucat ialah tembaga sulfat. Ciri dari bakteri yang memiliki kapsul, koloni terlihat berlendir apabila dilakukan penanaman pada media differensial secara makroskopis, contohnya adalah *Klebsiella* sp.

Metode pewarnaan *Burrry Gins* adalah Teknik pewarnaan negatif yang dibuat untuk menggambarkan kapsul dari bakteri secara lebih jelas dibawah mikroskop. Metode ini memanfaatkan pewarna yang mewarnai pada bagian latar belakang bakteri, bukan struktur kapsul itu sendiri, sehingga kapsul dapat terlihat sebagai area yang tidak memiliki warna atau jernih disekitar sel bakteri yang dilakukan pewarnaan. Reagen yang dipakai dalam metode *Burrry Gins* ialah nigrosin. Nigrosin merupakan pewarna asam yang menghasilkan latar belakang yang gelap saat dipergunakan pada pewarnaan negatif.



Gambar 4. 12 Pewarnaan Kapsul Metode *Burrry Gins*

4.4 Uji Biokimia Bakteri

Uji biokimia adalah salah satu metode penting dalam proses identifikasi dan karakterisasi bakteri. Melalui serangkaian reaksi biokimia, dapat diketahui kemampuan metabolik spesifik dari suatu bakteri, seperti kemampuan memfermentasi karbohidrat, memproduksi enzim tertentu, atau menguraikan senyawa tertentu. Setiap spesies bakteri umumnya memiliki profil biokimia yang khas, sehingga uji ini menjadi alat bantu utama dalam klasifikasi dan diagnosis mikroorganisme.

Dalam dunia mikrobiologi, identifikasi yang tepat terhadap jenis bakteri sangat penting, baik untuk keperluan medis, industri, maupun penelitian. Uji-uji seperti uji katalase, oksidasi, SIM (Sulfida, Indol, Motilitas), *Methyl Red* dan *Voges-Proskauer*), serta uji fermentasi karbohidrat adalah beberapa contoh uji biokimia yang umum digunakan dalam laboratorium mikrobiologi. Melalui pengamatan hasil reaksi yang terjadi, kita dapat menyimpulkan karakteristik dan kemungkinan spesies dari bakteri yang diuji.

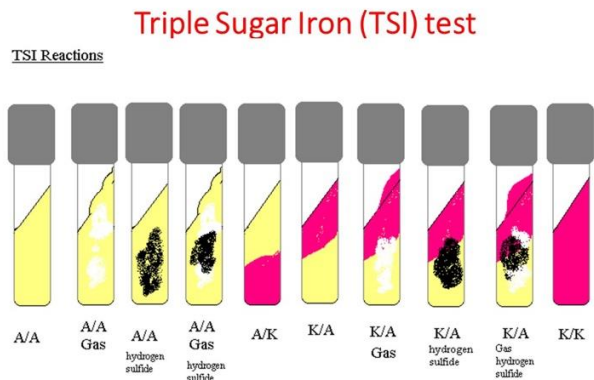
Kegiatan ini bertujuan untuk mengenali dan memahami berbagai uji biokimia yang digunakan dalam identifikasi bakteri, serta menginterpretasikan hasil reaksi yang diperoleh untuk menentukan karakteristik fisiologi dan metabolisme dari bakteri yang diuji.

4.4.1 Pengujian TSIA (*Triple Sugar-Iron Agar*)

Pengujian TSIA digunakan untuk bisa membedakan golongan *Enterobacteriaceae* dari basilus gram negatif intestinal lainnya. Perbedaan tersebut berdasarkan hasil fermentasi pada karbohidrat

contohnya yaitu glukosa dan laktosa atau sukrosa dan memproduksi *hydrogen sulfide* (H_2S). Fenol red adalah indikator untuk identifikasi kemampuan dari bakteri dalam melakukan fermentasi karbohidrat. Adanya fermentasi apabila terjadi berubahnya warna dari merah (basa) berubah warna menjadi kuning (asam). *Ferric ammonium citrate* merupakan indikator adanya H_2S . H_2S terbentuk dari adanya reaksi antara *sodium tiosulfat* dengan *Ferric ammonium citrate* membentuk endapan hitam di dasar tabung. Produksi gas ditunjukkan dengan adanya gelembung atau pecahnya media agar di dalam tabung.

Prosedur pengujian menggunakan TSIA dengan cara koloni bakteri diambil dengan menggunakan kawat inokulasi kemudian di inokulasikan pada media TSIA dengan menusuk melalui bagian Tengah media ke dalam bagian bawah dari tabung. Kemudian mengambil lagi bakteri menggunakan ose kemudian dilakukan penggoresan secara zig-zag di permukaan bidang miring. Selanjutnya tabung tersebut diinkubasi menggunakan suhu $37^{\circ}C$ dalam waktu 24 jam kemudian melakukan identifikasi perubahan warna yang terjadi. Adapun hasil interpretasi hasil dapat diamati pada gambar:



Gambar 4. 13 Interpretasi Hasil Pengujian TSIA
(Aryal, 2022)

Tabel 4. 2 Interpretasi Uji TSIA

N o	Warna pada media (Slant/ Bunt)	Simbol	Interpretasi	Bakteri
1	Kuning/Ku ning	A/A	Hanya terjadi fermentasi glukosa dan katabolisasi pepton	<i>Escherichia coli</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> dan <i>K. pneumoniae</i> .
2	Kuning/Ku ning	A/A	Fermentasi glukosa dan	<i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> ,

No	Warna pada media (Slant/Bunt)	Simbol	Interpretasi	Bakteri
	terbentuk gelembung udara	Gas	laktosa/sukrosa serta terbentuk gas	<i>Enterobacter</i>
3	Kuning/Kuning terbentuk warna hitam	A/A H ₂ S	Fermentasi glukosa dan laktosa/sukrosa serta terbentuk H ₂ S	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , dan <i>P. vulgaris</i>
4	Kuning/Kuning terbentuk warna hitam dan gelembung udara	A/A H ₂ S gas	Fermentasi glukosa dan laktosa/sukrosa serta terbentuk H ₂ S dan gas	<i>Citrobacter sp</i> dan <i>Proteus vulgaris</i>
5	Kuning/Merah	A/K	Hanya terjadi fermentasi glukosa	<i>Klebsiella</i>
6	Merah/Kuning	K/A	Hanya terjadi fermentasi glukosa dan	<i>Citrobacter freundii</i> ,

BAKTERIOLOGI:

Pendekatan Siklus Kerja Analisis Kesehatan

N o	Warna pada media (Slant/ Bunt)	Simbol	Interpretasi	Bakteri
			katabolisasi pepton	<i>Citrobacter koseri</i> dan <i>Morganella morganii</i>
7	Merah/Kuning terbentuk gelembung udara	K/A gas	Hanya terjadi fermentasi glukosa dan terbentuk gas	<i>Enterobacter cloacae</i>
8	Merah/Kuning terbentuk warna hitam	K/A H ₂ S	Hanya terjadi fermentasi glukosa dan terbentuk H ₂ S	<i>Edwardsiella tarda</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Proteus mirabilis</i> dan <i>Salmonella spp</i>
9	Merah/Kuning terbentuk gelembung udara dan warna hitam	K/A H ₂ S gas	Hanya terjadi fermentasi glukosa dan terbentuk gas dan H ₂ S	<i>Salmonella</i> dan <i>Proteus</i>
10	Merah/Merah	K/K	Tidak terjadi fermentasi dan	<i>Acinetobacter spp.</i>

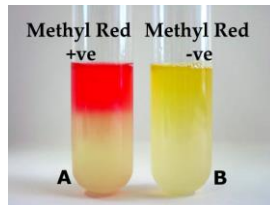
N o	Warna pada media (Slant/ Bunt)	Simbol	Interpretasi	Bakteri
			katabolisme pepton	<i>dan Pseudomonas spp.</i>

4.4.2 Uji *Methyl Red* (MR)

Pengujian methyl red dipergunakan untuk mengidentifikasi kemampuan dari bakteri dalam menghasilkan asam dari fermentasi glukosa. Indikator dari pH metil merah akan mendeteksi asam seperti asam laktat, asam asetat ataupun asam format. Bakteri akan melakukan pengubahan glukosa menjadi asam piruvat melewati jalur Embden—Meyerhof yang selanjutnya akan dimetabolisme sehingga terbentuk asam. Jenis dari asam yang dihasilkan berbeda dari satu spesies ke spesies lainnya tergantung dari jalur enzimatik yang ada pada bakteri tersebut. Indikator dari metil red pada kisaran pH 4,4 akan berubah menjadi merah yang menandakan uji positif. Pada hasil pH 6,0 akan memberikan warna kuning yang menandakan uji tersebut negatif. (Dalynn, 2014).

Prosedur pengujian Methyl red adalah dengan memasukkan 2,5 ml biakan bakteri pada tabung steril berisi media MR-VP kemudian menambahkan 5 tetes reagen metil merah kemudian membandingkan organisme uji menggunakan biakan kontrol. Biakan kontrol yang digunakan untuk MR positif contohnya

Escherichia coli sedangkan MR negatif misalnya menggunakan *E. aerogenes*. Selanjutnya dilakukan inkubasi 35-37°C selama 48 jam (bisa sampai 72 jam untuk meyakinkan hasil identifikasi). Hasil disebut positif menunjukkan perubahan warna menjadi merah pada area permukaan media sedangkan hasil dikatakan negatif jika permukaan pada media menghasilkan warna kuning.



Gambar 4. 14 Interpretasi Hasil Pengujian MR
A. Hasil positif; B. Hasil Negatif (McDivitt, 2009)

4.4.3 Uji SIM (*Sulfide Indole Motility*)

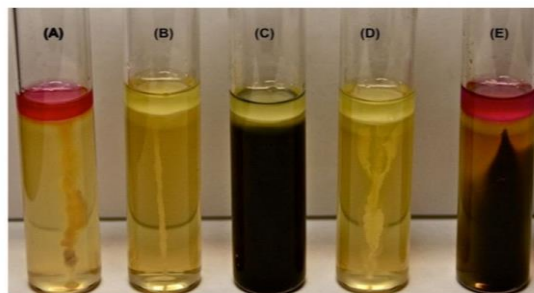
Pengujian SIM adalah media kombinasi yang mampu mengidentifikasi karakteristik bakteri berupa reduksi sulfur, indol dan motilitas. Media tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi *eenterobacteriaceae* khususnya *Salmonella* dan *shigella* berdasarkan dari kemampuan menghasilkan hydrogen sulfide, indol dan menunjukkan motilitasnya, Media SIM mengandung *ferric ammonium sitrat*, *kasein pepton* dan *sodium tiosulfat*. *Ferric ammonium citrate* akan bereaksi dengan H_2S yang dihasilkan oleh bakteri kemudian membentuk besi sulfida (endapan hitam). Produksi indol terdeteksi pada media karena adanya kasein pepton. Mikroba yang mempunyai enzim triptofanase akan mendegradasi

triptofan untuk menghasilkan indol, asam piruvat dan ammonia.

Prosedur pengujian SIM yaitu menginokulasi bakteri pada media SIM dengan lama waktu 18-24 jam pada suhu 33-37°C dengan menggunakan metode tusuk (menusuk pada bagian Tengah media sampai 1/3 bagian bawah tabung) selanjutnya melakukan interpretasi hasil sebagai berikut:

- H₂S positif apabila terbentuk endapan berwarna hitam pada media
- Indol Positif apabila terdapat endapan merah (cincin merah) diatas permukaan media setelah penambahan reagen kovacs
- Motilitas positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri menjauhi garis tusukan inokulasi sedangkan non-motil hanya tumbuh disepanjang garis tusukan pada saat inokulasi

SIM Medium (H₂S, Indole, Motility) Test



- (A) *Escherichia coli*: Motile, hydrogen sulfide (-), indole (+)
(B) *Staphylococcus aureus*: Non-motile, hydrogen sulfide (-), indole (-)
(C) *Salmonella arizonae*: Motile, hydrogen sulfide (+), indole (-)
(D) *Enterobacter aerogenes*: Motile, hydrogen sulfide (-), indole (-)
(E) *Proteus vulgaris*: Motile, hydrogen sulfide(+), indole (+)

Gambar 4. 15 Interpretasi Hasil Uji SIM

DAFTAR PUSTAKA

- Adriyani, A. Gambaran Hasil Perbandingan Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam Dengan Variasi Carbol Fuchsin Dan Methylen Blue. (Skripsi, Universitas Muhammadiyah Semarang, 2016).
- Aryal,S. 2022. TSIA Test- Principle, Media, Procedure, Results, Uses. <https://Microbenotes.Com/Triple-Sugar-Iron-AgarTsia-Test>.
- Bassiri, E. (2013). Staining and Bacterial Cell Morphology. Philadelphia: University of Pennsylvania.
- Campbell, N. A & Jane B. Reece. 2012. Biology Edisi 8 Jilid 2. Jakarta: Erlangga.
- Cooper,C.R. 2019. Sulfide-Indole-Motility (SIM) Test. Microbiology Laboratory (BIOL 3702L).
- Dalynn B. 2014. Methyl Red Reagent. Catalogue No. RM65.
- Kumar, S. (2016). Essentials of Microbiology. In Essentials of Microbiology. <https://doi.org/10.5005/jp/books/12697>
- Lee, A. (2021). General Microbiology Laboratory. USA: North Carolina State University.
- Madigan, M. T. & Martinko, J. M. (2006). Brock: Biology of Microorganism. USA: Pearson Education International.
- Mcdevitt, S. 2009. Methyl Red And Voges-Proskauer Test Protocols. American Society For Microbiology.

- Parija, S. C. (2012). Microbiology & Immunology 2nd edition. (Vol. 4, Issue 1). Elsevier.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S. (2008). Dasar-dasar Mikrobiologi. Jakarta: UI Press.
- Purwaningsih, D & Wulandari, D. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. J. Sains Kes. 3(5): 750-759
- Smith, A. C. & Hussey, M. A. (2016). Gram Stains Protocols. USA: American Society for Microbiology.
- Talaro, K. P., & Chess, B. (2012). Foundations in Microbiology Eight Edition. Mc Graw Hill companies.
<https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfireresults>
- Waluyo, L. (2008). Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.

BAKTERIOLOGI:

Pendekatan Siklus Kerja Analisis Kesehatan

BAB 5

UJI KEPEKAAN ANTIBIOTIK

Oleh Hendri Satria Kamal uyun

5.1 Pendahuluan

Antibiotik merupakan suatu senyawa yang dapat membunuh atau mencegah pertumbuhan bakteri yang dapat digunakan oleh hewan atau manusia sebagaipengobatan terhadap infeksi dari bakteri patogen (Shavira, Cahyadi and Windria, 2022).

Antibiotik telah dimanfaatkan jauh sebelum lahirnya kedokteran modern. Sejak zaman Mesir kuno, masyarakat sudah menggunakan roti yang ditumbuhi jamur untuk mengobati luka dan luka bakar. Pada Abad Pertengahan, tabib di Tiongkok dan Yunani juga memanfaatkan bahan berjamur untuk mengatasi berbagai penyakit (Muhammad Asril *et al.*, 2024)

Memasuki abad ke-19, Sir John Scott Burden-Sanderson mengamati bahwa media cair yang tertutup kapang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri. Tahun 1871, Joseph Lister menemukan bahwa *Penicillium glaucum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri, bahkan berhasil menyembuhkan luka seorang perawat dengan ekstrak jamur tersebut. Pada periode yang sama, Louis Pasteur bersama Jules François Joubert menemukan bahwa beberapa jenis bakteri dapat menghambat bakteri lainnya. Penelitian mereka pada

tahun 1877 menunjukkan bahwa pertumbuhan *Bacillus anthracis* dalam urine terhenti ketika dikultur bersama bakteri aerob lain (Muhammad Asril *et al.*, 2024)

Tahun 1889, Jean Paul Vuillemin memperkenalkan istilah “antibiosis” untuk menggambarkan hubungan biologis di mana satu organisme membunuh organisme lain demi kelangsungan hidupnya. Penemuan besar berikutnya terjadi pada tahun 1928, ketika Alexander Fleming mendapati adanya koloni jamur *Penicillium notatum* yang menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Senyawa aktif dari jamur ini kemudian dikenal sebagai penisilin. Produksi massal penisilin baru dimulai pada tahun 1940 oleh Howard Florey dan Ernst Chain, menggunakan *Penicillium chrysogenum* (Muhammad Asril *et al.*, 2024)

Selain penisilin, Fleming juga menemukan lisozim, yaitu enzim dengan sifat antibakteri. Pada 1930, René Dubos berhasil mengisolasi enzim dari *Bacillus* yang hidup di tanah. Enzim ini mampu menguraikan kapsul polisakarida tipe III *Streptococcus pneumoniae* dan digunakan untuk mengobati tikus yang terinfeksi peritonitis pneumokokal (Muhammad Asril *et al.*, 2024)

Keunggulan antibiotik terletak pada kemampuannya menargetkan mikroorganisme penyebab penyakit tanpa merusak sel tubuh inang. Hal ini dimungkinkan karena adanya perbedaan struktur dan metabolisme antara manusia dan mikroorganisme. Meski demikian, resistensi antimikroba kini menjadi ancaman serius, ditambah dengan munculnya penyakit baru serta kembalinya penyakit lama yang sebelumnya terkendali (Muhammad Asril *et al.*, 2024)

Secara umum, antimikroba adalah istilah yang mencakup semua senyawa yang mampu menghentikan atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, dan protozoa. Antibiotika merupakan salah satu kelompok antimikroba yang secara khusus bekerja melawan bakteri. Sementara itu, antijamur (antifungal) adalah kelompok antimikroba yang digunakan untuk mengatasi infeksi akibat jamur, baik yang menyerang permukaan tubuh (superfisial) maupun yang menyerang organ dalam (sistemik). Dengan demikian, semua antibiotika termasuk antimikroba, tetapi tidak semua antimikroba adalah antibiotika.

Bakterisidal merupakan agen yang secara aktif membunuh bakteri. Agen ini berikatan kuat dengan sel bakteri dan menyebabkan kematian sel tersebut. Meskipun demikian, sel yang mati tidak mengalami kerusakan struktural atau lisis, sehingga jumlah total sel tetap sama dan kekeruhan medium tetap terlihat secara visual.

Bakteriolitik adalah agen yang tidak hanya membunuh bakteri, tetapi juga menghancurkan dinding sel sehingga isi sel dilepaskan (lisis). Proses ini menyebabkan penurunan jumlah sel hidup maupun total sel, yang dapat diamati dari berkurangnya kekeruhan kultur.

5.2 Klasifikasi Berdasarkan Spektrum

Aksi Karakteristik spektrum aktivitas dari setiap antibiotik mencerminkan genus dan spesies yang biasanya terpengaruh olehnya. Dalam klasifikasi ini,

agen antibiotik dapat memiliki spektrum yang bersifat sempit atau luas. Antibiotik dengan spektrum sempit diartikan sebagai agen antibiotik yang efektif terhadap sejumlah kecil mikroorganisme, yakni dapat menangani bakteri Gram-positif saja atau bakteri Gram-negatif saja. Berbeda dengan agen antibiotik berspektrum sempit, agens antibiotik berspektrum luas memiliki kemampuan untuk memengaruhi berbagai jenis bakteri patogen, termasuk bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Umumnya, agens antibiotik berspektrum sempit dianggap sebagai pilihan yang ideal dan lebih diutamakan daripada agen antimikroba berspektrum luas. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa antibiotik berspektrum sempit cenderung memiliki dampak yang lebih terbatas terhadap flora normal dalam tubuh jika dibandingkan dengan antibiotik berspektrum luas, sehingga kurang berpotensi menyebabkan superinfeksi. Selain itu, penggunaan antibiotik berspektrum sempit dapat membantu mengurangi perkembangan resistensi bakteri karena hanya fokus pada penanganan bakteri tertentu (Muhammad Asril *et al.*, 2024)

Meskipun terdapat tumpang tindih dalam spektrum aktivitas, setiap kelas antibiotik umumnya memiliki karakteristik khas. Beberapa antimikroba dikategorikan sebagai spektrum sempit, misalnya benzil penisilin yang sangat efektif terhadap banyak kokus Gram-positif dan Gram-negatif, tetapi kurang berpengaruh terhadap basil Gram-negatif enterik. Sebaliknya, kloramfenikol, tetrasiklin, dan sefalosporin termasuk spektrum luas karena mampu menghambat berbagai bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, bahkan beberapa organisme intraseluler obligat (Muhammad Asril *et al.*, 2024)

Perlu dicatat, ketika resistensi muncul pada spesies yang sebelumnya sensitif, spesies tersebut tetap dianggap berada dalam spektrum obat tersebut, meskipun sebagian populasinya sudah resisten. Sebagai contoh, benzil penisilin masih dikatakan memiliki spektrum terhadap *Staphylococcus aureus*, meskipun kini lebih dari 80% strain bakteri tersebut telah resisten terhadap penisilin (Muhammad Asril *et al.*, 2024).

5.3 Mekanisme Kerja Antibiotik

Sebuah antibiotik bekerja dengan menargetkan komponen seluler tertentu pada bakteri, yang kemudian menyebabkan kerusakan bertahap hingga sel bakteri tidak mampu bertahan hidup.

Menurut Torok *et al.*, antibiotik dapat diklasifikasikan berdasarkan mekanisme kerjanya dalam melawan bakteri. Efektivitas antibiotik ini dapat berbeda antara bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, tergantung pada struktur dinding sel dan membran mereka.

Secara umum, mekanisme kerja antibiotik dikelompokkan ke dalam lima kategori utama, yaitu:

1. Menghambat sintesis dinding sel
2. Merusak fungsi sel membran
3. Mengganggu sintesis protein
4. Menghambat sintesis asam nukleat
5. Menghambat jalur metabolik/enzim bakteri.

5.3.1. Penghambatan sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri tersusun atas peptidoglikan, yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Penghambatan sintesis dinding sel dapat terjadi melalui pemblokiran pembentukan peptidoglikan atau proses cross-linking-nya. Mekanisme ini efektif terhadap bakteri yang sedang aktif tumbuh (Anggita, Nurisyah and Wiriansya, 2022).

Antibiotik golongan β -laktam bekerja dengan cara masuk ke dalam sel bakteri melalui saluran porin pada membran luar, kemudian berikatan dengan protein pengikat penisilin (penicillin-binding proteins/PBPs) yang terletak pada membran sitoplasma. Ikatan ini mengganggu sintesis dinding sel, sehingga menyebabkan kelemahan struktur dinding. Akibatnya, tekanan osmotik di dalam sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan lingkungan sekitarnya menyebabkan sel bakteri mengalami lisis. Contoh antibiotik dari golongan ini antara lain adalah penisilin dan sefalosporin.

5.3.2. Merusak fungsi sel membran

Sel bakteri memiliki dua lapisan pelindung utama, yaitu membran plasma dan dinding sel. Dinding sel memiliki fungsi penting dalam menjaga integritas sel dengan melindunginya dari tekanan osmotik internal. Struktur ini tersusun atas peptidoglikan yang terletak di bagian luar membran sitoplasma, dan umumnya berfungsi sebagai penghalang selektif, hanya memungkinkan molekul-molekul kecil untuk melewatinya (Fadrian, 2023).

Antibiotik golongan polimiksin bersifat kationik (bermuatan positif) dan mampu berinteraksi dengan permukaan bakteri yang bermuatan negatif, akibat adanya komponen peptidoglikan dan lipopolisakarida (LPS) pada membran luar, terutama pada bakteri Gram negatif. Interaksi ini menyebabkan polimiksin berikatan dengan membran sel bakteri, mengganggu struktur lipid dan meningkatkan permeabilitas membran. Kerusakan membran sel ini menyebabkan ketidakseimbangan tekanan osmotik, sehingga terjadi keluarnya isi sel dan masuknya cairan dari lingkungan luar. Proses ini juga menghambat respirasi sel, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri (Fadrian, 2023).

5.3.3. Menghambat sintesis protein

Sintesis protein merupakan proses biologis yang kompleks dan esensial, terutama pada sel bakteri, di mana setiap sel membentuk protein spesifik sesuai dengan kebutuhan fungsionalnya. Proses ini terdiri dari dua tahap utama, yaitu transkripsi dan translasi. Translasi sendiri berlangsung melalui empat tahap berturut-turut, yaitu inisiasi, elongasi, terminasi, dan daur ulang (recycling), yang bersama-sama mengatur pembentukan rantai polipeptida (Fadrian, 2023).

Antibiotik yang menghambat sintesis protein bekerja dengan memanfaatkan perbedaan struktural antara ribosom bakteri dan ribosom sel eukariotik. Perbedaan ini memungkinkan antibiotik menghambat pertumbuhan bakteri secara selektif tanpa merusak sel inang. Ribosom bakteri memiliki ukuran 70S, yang terdiri atas subunit kecil 30S dan subunit besar 50S. Kedua subunit ini menjadi target utama dalam mekanisme kerja berbagai antibiotik (Fadrian, 2023).

Beberapa antibiotik yang menargetkan subunit 30S ribosom bakteri antara lain aminoglikosida dan tetrasiklin. Aminoglikosida memiliki gugus karbohidrat bermuatan positif yang memungkinkan interaksi dengan membran plasma bakteri yang bermuatan negatif. Interaksi ini memfasilitasi masuknya antibiotik ke dalam sel melalui proses difusi atau transport aktif. Setelah berada di dalam sitoplasma, antibiotik golongan aminoglikosida mengganggu proses translasi dengan menyebabkan kesalahan pembacaan (mistranslasi) atau penghentian sintesis protein secara prematur, yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri (Fadrian, 2023).

5.3.4. Menghambat sintesis asam nukleat

Sintesis DNA pada bakteri memerlukan sejumlah enzim kunci yang dikenal sebagai topoisomerase. Enzim ini diklasifikasikan ke dalam dua tipe utama, yaitu tipe IA (termasuk Topoisomerase I dan III) dan tipe IIA (yang mencakup DNA gyrase dan Topoisomerase IV). Kekurangan atau gangguan fungsi enzim-enzim ini dapat menyebabkan pembentukan DNA yang tidak normal (Fadrian, 2023).

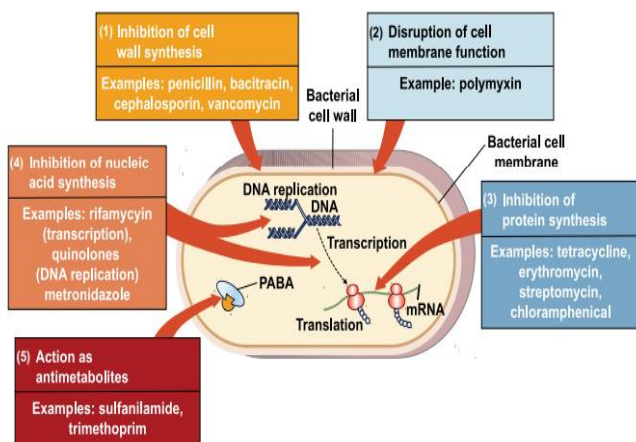
Antibiotik golongan Fluoroquinolon merupakan antibiotik spektrum luas yang efektif melawan bakteri Gram positif, Gram negatif, maupun bakteri anaerob. Mekanisme kerjanya adalah dengan menghambat aktivitas enzim DNA gyrase pada bakteri Gram negatif, yang berperan penting dalam inisiasi replikasi DNA. Sementara itu, pada bakteri Gram positif, antibiotik golongan fluoroquinolon menghambat enzim Topoisomerase IV, enzim yang berperan dalam proses dalam segregasi sel anak (dekatenasi) (Fadrian, 2023).

5.3.5. Menghambat jalur metabolik/enzim bakteri

Sel eukariotik memperoleh asam folat melalui sistem transpor aktif, sedangkan mikroorganisme harus mensintesisnya sendiri melalui jalur *de novo*. Perbedaan ini menjadikan jalur biosintesis folat sebagai target yang efektif untuk pengembangan obat antibiotik.

Antibiotik golongan sulfonamid bekerja dengan cara menghambat senyawa para-aminobenzoic acid (PABA), yaitu prekursor penting dalam jalur sintesis folat pada bakteri. Karena memiliki struktur kimia yang mirip dengan PABA, sulfonamid bertindak sebagai inhibitor kompetitif yang mengganggu pembentukan folat, sehingga menghambat pertumbuhan dan reproduksi bakteri (Fadrian, 2023).

Selain itu, antibiotik dari golongan diaminopiridin, seperti trimetoprim, menghambat enzim dihydrofolate reductase (DHFR), yaitu enzim penting pada tahap akhir dalam jalur sintesis folat. Kombinasi sulfonamid dan trimetoprim sering digunakan secara sinergis untuk meningkatkan efektivitas antibakteri melalui penghambatan dua titik pada jalur metabolik yang sama (Fadrian, 2023).



Gambar 5. 1. Mekanisme Utama Kerja Antibiotik
(Alicia López Romo and Rodolfo Quirós, 2019)

5.4 Pengujian sensitivitas Antibakteri

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) atau konsentrasi minimum adalah konsentrasi terendah dari agen antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan suatu organisme. Untuk mengetahui efek agen antimikroba secara invitro dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain.

1. Metode Difusi

a. Metode Difusi Cakram

Pengujian difusi cakram (disk diffusion testing), yang pertama kali dikembangkan pada tahun 1940, merupakan metode resmi yang digunakan secara luas di berbagai laboratorium mikrobiologi klinik untuk pengujian rutin kepekaan antimikroba. Saat ini, berbagai standar yang telah diterima dan disetujui telah diterbitkan oleh *Clinical and Laboratory Standards*

Institute (CLSI) untuk pengujian terhadap bakteri maupun ragi (*yeast*) (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

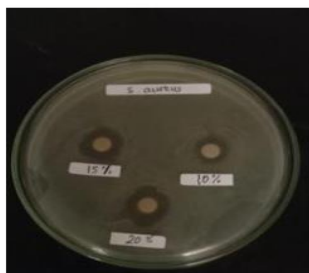
Metode ini, yang dikenal pula sebagai *disk diffusion method*, digunakan untuk menentukan sensitivitas atau resistensi bakteri terhadap antibiotik tertentu. Pengujian ini merupakan prosedur standar yang andal, relatif sederhana, dan mampu memberikan hasil dalam waktu singkat (Astuti *et al.*, 2022).

Metode ini dirancang terutama untuk mikroorganisme yang dapat tumbuh cepat, umumnya dalam waktu semalam pada suhu inkubasi 35°C. Namun, efektivitasnya berkurang jika diterapkan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat, karena hasil yang diperoleh dapat menjadi tidak akurat atau sulit untuk diinterpretasikan.

Untuk memperkirakan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dari suatu agen antibakteri terhadap mikroorganisme uji, metode difusi cakram digunakan dengan mengamati terbentuknya zona hambat, yaitu area jernih di sekitar cakram antibiotik (dikenal sebagai halo), yang menandakan terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme.

Agen antimikroba berdifusi secara radial dari cakram menuju medium agar, dengan konsentrasi yang menurun seiring bertambahnya jarak dari pusat cakram. Oleh karena itu, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, semakin tinggi tingkat sensitivitas mikroorganisme terhadap antibiotik tersebut. Sebaliknya, zona hambat yang kecil atau tidak terbentuk menunjukkan bahwa mikroorganisme bersifat resisten terhadap agen antibakteri yang diuji.

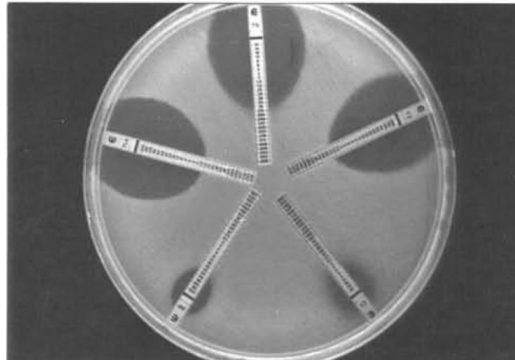
Dalam metode ini, permukaan medium agar terlebih dahulu diinokulasi secara merata dengan mikroorganisme uji yang telah distandarisasi. Setelah itu, cakram kertas saring berdiameter sekitar 6 mm yang telah mengandung senyawa uji dengan konsentrasi tertentu diletakkan di atas permukaan agar. Cawan Petri kemudian diinkubasi dalam kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme. Selama inkubasi, senyawa antimikroba akan menyebar (berdifusi) ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan mikroba di sekitarnya. Efektivitas senyawa diukur berdasarkan ukuran diameter zona bening (zona hambat) yang terbentuk di sekitar cakram.



Gambar 5. 2 Uji Aktivitas Antibakteri Atau Antimikroba Dengan Metode Diffusi Agar Sumber
b. Metode Garis tingkat/ Episilometer

E. test Merupakan modifikasi dari uji difusi disk, menggunakan strip yang diresapi dengan gradien konsentrasi antibiotik atau antibakteri. Beberapa strip masing masing mengandung antimikroba yang berbeda, ditempatkan di media agar yang telah diinokulasi organisme uji secara merata sehingga memanjang keluar secara radial dari pusat. Setiap gradien antibiotik dan diberi skala. E test merupakan alternatif yang lebih

mudah cepat dan sesuai untuk kepekaan antibiotik (Astuti *et al.*, 2022)



Gambar 5.3 Uji Aktivitas Antibakteri Atau Antimikroba Dengan Metode E. test

c. Metode Sumuran (well diffusion method)

Metode difusi sumuran agar banyak digunakan untuk menguji aktivitas antimikroba dari ekstrak tanaman maupun mikroba (Magaldi *et al.*, 2004). Prosedur ini mirip dengan metode difusi cakram, di mana permukaan agar terlebih dahulu diinokulasi dengan inokulum mikroba yang telah distandarisasi, kemudian disebar secara merata ke seluruh permukaan medium (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Setelah itu, dibuat sumuran (lubang kecil) pada agar dengan diameter sekitar 6–8 mm menggunakan alat steril, seperti bor gabus (*cork borer*) atau ujung pipet. Ke dalam sumuran tersebut, ditetaskan larutan ekstrak atau agen antimikroba pada konsentrasi tertentu, dengan volume antara 20 hingga 100 μL (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Cawan agar kemudian diinkubasi pada suhu dan lama waktu yang sesuai dengan jenis mikroorganisme uji. Selama inkubasi, senyawa antimikroba atau antibiotik menyebar (berdifusi) dari sumuran ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme di sekitarnya. Area bening yang terbentuk di sekitar sumuran, yang disebut zona hambat, menunjukkan seberapa efektif senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan mikroba (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

2. Kromatografi Lapis Tipis (Thin-Layer Chromatography, TLC)-Bioautografi

Pada tahun 1946, Goodall dan Levi menggabungkan metode kromatografi kertas dengan teknik bioautografi kontak untuk mendeteksi berbagai jenis penisilin dalam rangka identifikasi senyawa aktif. Kemudian, Fischer dan Lautner memperkenalkan teknik kromatografi lapis tipis (TLC) dalam aplikasi yang serupa. Metode ini memadukan TLC dengan deteksi biologis dan kimia untuk mengamati aktivitas senyawa. Sejak itu, berbagai penelitian telah memanfaatkan metode TLC-bioautografi untuk menyaring ekstrak organik, terutama ekstrak tanaman, dalam menguji potensi antibakteri dan antijamur (Horváth *et al.*, 2010). Seperti ditunjukkan di bawah ini, terdapat tiga teknik bioautografi yang telah dijelaskan untuk penyelidikan senyawa antimikroba melalui pendekatan ini, yaitu difusi agar, bioautografi langsung, dan uji tumpang agar (agar-overlay assay) (Dogra Deeksha, JM. Julka and Arun Kumar, 2021).

a. Difusi agar

Metode ini, yang juga dikenal sebagai *metode kontak agar*, merupakan teknik yang paling jarang digunakan di antara ketiga metode bioautografi. Prosedur ini melibatkan perpindahan senyawa antimikroba dari kromatogram (baik kertas maupun lapis tipis) ke permukaan medium agar yang telah diinokulasi sebelumnya dengan mikroorganisme uji, melalui proses difusi. Setelah didiamkan selama beberapa menit hingga beberapa jam untuk memungkinkan difusi terjadi, kromatogram diangkat, dan cawan agar kemudian diinkubasi. Zona hambat pertumbuhan mikroorganisme akan tampak pada area tempat senyawa antimikroba bersentuhan langsung dengan lapisan agar (Marston, 2011).

b. Bioautografi Langsung

Bioautografi langsung merupakan metode yang paling banyak digunakan di antara ketiga teknik bioautografi. Proses ini dilakukan dengan menyemprotkan suspensi mikroba secara merata ke permukaan lempeng TLC, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama sekitar 48 jam dalam kondisi lembap (Dewanjee *et al.*, 2015).

Untuk memvisualisasikan pertumbuhan mikroba, garam tetrazolium sering digunakan. Garam ini akan direduksi oleh enzim dehidrogenase yang terdapat pada sel hidup, menghasilkan senyawa formazan berwarna intens. Reagen yang paling umum digunakan untuk deteksi ini adalah *p-Iodonitrotetrazolium violet* (Balouiri, Sadiki and Ibensouda, 2016).

Setelah penyemprotan larutan garam tetrazolium, lempeng bioautogram diinkubasi kembali selama kurang lebih 24 jam pada suhu 25°C, atau dapat juga diinkubasi pada suhu 37°C selama 3–4 jam (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Untuk mendapatkan daya lekat yang optimal antara mikroba dan lempeng TLC, digunakan *Mueller Hinton Broth* yang diperkaya dengan agar, guna menyediakan kelembapan dan nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan bakteri secara optimal (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

c. Agar-Overlay Assay

Metode ini juga dikenal sebagai *bioautografi imersi* (*immersion bioautography*), yang merupakan perpaduan dari dua metode sebelumnya. Dalam prosedurnya, lempeng TLC dilapisi dengan medium agar cair yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji (*seeded agar*). Untuk mendukung difusi senyawa uji secara optimal ke dalam medium agar, lempeng biasanya disimpan pada suhu rendah selama beberapa jam sebelum proses inkubasi (Mehrabani *et al.*, 2013).

Setelah diinkubasi dalam kondisi yang sesuai dengan karakteristik mikroorganisme uji, pewarnaan dilakukan menggunakan zat warna tetrazolium. Sama halnya dengan metode bioautografi langsung, pendekatan ini dapat diterapkan pada berbagai jenis mikroorganisme, seperti *Candida albicans* dan kapang (*molds*). Metode ini mampu menghasilkan zona hambat pertumbuhan yang terdefinisi dengan baik dan relatif tahan terhadap kontaminasi (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016)

Secara umum, TLC-bioautografi merupakan teknik yang sederhana, efektif, dan ekonomis untuk pemisahan campuran kompleks, serta memungkinkan pelokalan senyawa aktif secara langsung pada lempeng TLC. Oleh karena itu, metode ini dapat diterapkan baik di laboratorium berfasilitas lengkap maupun laboratorium kecil dengan peralatan minimal (Balouiri, Sadiki and Ibensouda, 2016). Selain itu, metode ini juga berguna dalam mendeteksi senyawa antimikroba pada sampel lingkungan dan pangan, serta dalam pencarian senyawa antimikroba baru untuk pengembangan obat.

3. Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang paling tepat untuk penentuan nilai *MIC* (*Minimum Inhibitory Concentration*), karena memungkinkan estimasi konsentrasi senyawa antimikroba yang diuji dalam medium agar (*agar dilution*) maupun dalam medium cair (*broth macrodilution* atau *microdilution*). Baik metode dilusi dalam cairan maupun dalam agar dapat digunakan untuk mengukur secara kuantitatif aktivitas antimikroba *in vitro* terhadap bakteri dan jamur (Pfaller, Sheehan and Rex, 2004).

Nilai MIC yang dicatat didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari senyawa antimikroba yang diuji yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara visual, dan biasanya dinyatakan dalam satuan mg/mL atau mg/L (Pfaller, Sheehan and Rex, 2004).

Terdapat banyak pedoman resmi yang telah disetujui untuk pengujian kepekaan antimikroba dengan metode dilusi, baik terhadap bakteri fastidius maupun non-fastidius, serta terhadap ragi (*yeast*) dan jamur berfilamen (*filamentous fungi*). Standar yang paling diakui secara luas disediakan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dan *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) (Pfaller, Sheehan and Rex, 2004).

Sesuai anjuran, pedoman-pedoman ini memberikan prosedur pengujian yang seragam dan praktis untuk diterapkan di sebagian besar laboratorium mikrobiologi klinik. Meski pengembangan standar metodologi tersebut tidak menjamin relevansi klinis dari hasil pengujian, namun setidaknya memungkinkan pelaksanaan bioassay secara terstandar agar hasilnya dapat dievaluasi dalam konteks relevansi klinis.

a. Metode Dilusi dalam Kaldu (Broth Dilution Method)

Metode broth microdilution dan macrodilution merupakan teknik dasar yang umum digunakan untuk menguji kepekaan mikroorganisme terhadap senyawa antimikroba atau antibiotik. Prosedurnya dilakukan dengan menyiapkan larutan antimikroba dalam berbagai konsentrasi yang diencerkan secara bertingkat dua kali lipat (misalnya: 1, 2, 4, 8, 16, dan 32 mg/mL) dalam media cair yang mendukung pertumbuhan mikroba. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung uji berisi minimal 2 mL media untuk

metode macrodilution, atau ke dalam pelat mikrotiter 96-sumur dengan volume kecil untuk metode microdilution (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Setiap tabung atau sumur kemudian ditambahkan dengan suspensi mikroorganisme uji yang telah disiapkan menggunakan medium yang sama, setelah sebelumnya diencerkan dari suspensi standar yang telah disesuaikan dengan skala McFarland 0,5. Setelah semua larutan tercampur secara merata, tabung atau pelat mikrotiter 96-sumur yang telah diinokulasi tersebut diinkubasi (biasanya tanpa pengadukan) dalam kondisi suhu dan waktu yang sesuai, tergantung pada jenis mikroorganisme yang diuji (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah konsentrasi terendah dari suatu agen antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara menyeluruh. Nilai ini ditentukan berdasarkan pengamatan visual, yaitu tidak adanya pertumbuhan mikroba yang terlihat di dalam tabung atau sumur mikrodilusi (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Metode **macrodilusi** memiliki beberapa kekurangan, antara lain prosesnya yang rumit dan memakan waktu karena harus dilakukan secara manual, risiko kesalahan dalam menyiapkan larutan antimikroba untuk setiap pengujian, serta membutuhkan lebih banyak reagen dan ruang laboratorium (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Sebaliknya, metode **mikrodilusi** lebih unggul karena lebih efisien—menggunakan jumlah reagen yang lebih sedikit, memerlukan ruang yang lebih kecil, dan memberikan hasil yang lebih konsisten (reproducible) berkat skala miniaturisasi dalam prosedurnya.

Namun, hasil akhir tetap sangat bergantung pada bagaimana prosedur dijalankan. Oleh karena itu, metode ini harus dilakukan dengan cermat dan terstandarisasi agar hasilnya dapat diandalkan, baik di dalam satu laboratorium (*intralaboratory*) maupun di antara laboratorium yang berbeda (*interlaboratory*) (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012).

Untuk membantu membaca hasil akhir MIC, dapat digunakan alat bantu visual yang memudahkan pengamatan dan pencatatan hasil dengan lebih akurat. Selain itu, telah dikembangkan metode berbasis warna (*colorimetric methods*) yang menggunakan zat pewarna sebagai indikator pertumbuhan mikroba.

Beberapa zat pewarna yang sering digunakan antara lain:

- **MTT** (*3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida*)
- **XTT** (*2,3-bis{2-metoksi-4-nitro-5-[(sulfenilamino)karbonil] -2H-tetrazolium-hidroksida}*),

Keduanya sering digunakan dalam uji mikrodilusi untuk menentukan MIC, baik terhadap bakteri maupun jamur. Selain itu, **Alamar Blue** (*resazurin*) juga merupakan pewarna yang efektif sebagai indikator pertumbuhan dan dapat digunakan untuk tujuan serupa (Balouiri, Sadiki and Ibensouda, 2016).

b. Metode Dilusi Agar

Metode dilusi agar dilakukan dengan cara mencampurkan agen antimikroba atau antibiotik dalam berbagai konsentrasi tertentu ke dalam agar cair (molten agar), biasanya melalui pengenceran bertingkat dua kali lipat. Setelah media mengeras, inokulum mikroorganisme dengan jumlah yang telah ditentukan kemudian diteteskan atau diaplikasikan secara merata ke permukaan agar dalam cawan Petri (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Nilai MIC ditentukan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba atau antibiotik yang sepenuhnya menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah inkubasi dalam kondisi yang sesuai (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Metode ini cocok digunakan untuk pengujian kepekaan terhadap agen antibakteri maupun antijamur. Jika beberapa isolat diuji terhadap satu senyawa, atau jika ekstrak yang diuji memiliki warna yang mengganggu pengamatan pertumbuhan mikroorganisme di medium cair, maka metode dilusi agar lebih disukai dibandingkan metode dilusi dalam kaldu untuk penentuan MIC (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016).

Metode dilusi agar menunjukkan korelasi yang baik dengan metode E-test, khususnya untuk pengujian antibakteri terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Selain itu, perbandingan antara metode dilusi agar, difusi cakram, dan mikrodilusi dalam kaldu

BAKTERIOLOGI:

Pendekatan Siklus Kerja Analisis Kesehatan

menunjukkan hasil yang sangat memuaskan (Balouiri, Sadiki and Ibnsouda, 2016)

DAFTAR PUSTAKA

- Alicia López Romo and Rodolfo Quirós (2019) 'Appropriate use of antibiotics: an unmet need', *Therapeutic Advances in Vaccines*, 11(6), pp. 9–17. Available at: <https://doi.org/10.1177/https>.
- Anggita, D., Nurisyah, S. and Wiriansya, E.P. (2022) 'Mekanisme Kerja Antibiotik', *UMI Medical Journal*, 7(1), pp. 46–58.
- Astuti, R.T. *et al.* (2022) *Mikrobiologi Konseo Dasar dan Teknik Laboratorium*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibnsouda, S.K. (2016) 'Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review', *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), pp. 71–79. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2012) *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard - Eleventh edition*. Available at: <https://doi.org/M02-A11>.
- Dewanjee, S. *et al.* (2015) 'Bioautography and its scope in the field of natural product chemistry', *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 5(2), pp. 75–84. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2014.06.002>.

- Dogra Deeksha, JM. Julka and Arun Kumar (2021) 'Insight Into Antimicrobial Evaluation Techniques and Their Role in Better Assessment of Antimicrobial Agents: a Review', *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 15(1), pp. 6–13. Available at: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2022.v15i1.43411>.
- Fadrian (2023) *ANTIBIOTIK, INFEKSI DAN RESISTENSI*. Padang: Andalas University Press.
- Horváth, G. *et al.* (2010) 'Antimicrobial activity of essential oils: The possibilities of TLC-bioautography', *Flavour and Fragrance Journal*, 25(3), pp. 178–182. Available at: <https://doi.org/10.1002/ffj.1993>.
- Magaldi, S. *et al.* (2004) 'Well diffusion for antifungal susceptibility testing', *International Journal of Infectious Diseases*, 8(1), pp. 39–45. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2003.03.002>.
- Marston, A. (2011) 'Thin-layer chromatography with biological detection in phytochemistry', *Journal of Chromatography A*, 1218(19), pp. 2676–2683. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.068>.
- Mehrabani, M. *et al.* (2013) 'Evaluation of antifungal activities of *Myrtus communis* L. by bioautography method', *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(8), pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.5812/jjm.8316>.

- Pfaller, M.A., Sheehan, D.J. and Rex, J.H. (2004) 'Determination of Fungicidal Activities against Yeasts and Molds: Lessons Learned from Bactericidal Testing and the Need for Standardization', *Clinical Microbiology Reviews*, 17(2), pp. 268–280. Available at: <https://doi.org/10.1128/CMR.17.2.268-280.2004>.
- Shavira, A., Cahyadi, A.I. and Windria, S. (2022) 'KAJIAN PUSTAKA: AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERIOSIN *Lactobacillus* spp. TERHADAP BAKTERI RESISTAN', *Jurnal Sain Veteriner*, 40(1), p. 60. Available at: <https://doi.org/10.22146/jsv.67927>.

BIODATA PENULIS



Apt. Jajang Japar Sodik, M.Farm

Dosen Program Studi Profesi Apoteker
Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana

Penulis lahir di Padang tanggal 27 Agustus 1993. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Profesi Apoteker Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana. Menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi, Profesi Apoteker dan melanjutkan S2 Ilmu Farmasi di Universitas Bhakti Kencana.

BIODATA PENULIS



Apt. Ika Ristia Rahman M.Farm.
Dosen Program Studi DIII Farmasi
Akademi Farmasi Yarsi Pontianak

Penulis lahir di Pontianak pada tanggal 04 Juli 1988. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Studi DIII Farmasi Akademi Farmasi Yarsi Pontianak. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Farmasi di Universitas Muhammadiyah Surakarta, program profesi Apoteker di Universitas Muhammadiyah Surakarta pada tahun 2011 dan melanjutkan S2 pada Fakultas Farmasi Jurusan Pengembangan Obat Bahan Alam di Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tahun 2017. Penulis bergabung di Akademi Farmasi Yarsi mulai dari tahun 2011 sampai sekarang, menjadi dosen pengampu mata kuliah teknologi sediaan solid, teknologi sediaan steril, mikrobiologi Farmasi praktikum farmakognosi.

BIODATA PENULIS



Nita Andriani Lubis, S.Si, M.Biomed.

Dosen Program Studi Diploma Tiga Teknologi
Laboratorium Medis
Poltekkes Kemenkes Medan

Penulis lahir di Padangsidempuan tanggal 24 Desember 1980. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Diploma Tiga Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Medan. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Biologi dan melanjutkan S2 pada Jurusan Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Terlibat aktif dalam tridarma perguruan tinggi pengajaran-penelitian dan pengabdian kepada masyarakat.

e-mail: nita.andriani.lubsi@gmail.com

BIODATA PENULIS



apt. Luluk Aniqoh Meliana Putri, M.Farm

Dosen Tetap Program Studi S1 Farmasi Fakultas Fekar
Universitas STRADA Indonesia Kediri

Penulis lahir di Tulungagung, Penulis merupakan dosen tetap pada Program Studi S1 Famasi di Universitas STRADA Indonesia Kediri sejak Februari 2021. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Farmasi lulus tahun 2017 di Universitas Setia Budi Surakarta, Melanjutkan profesi Apoteker lulus tahun 2018 di Universitas Setia Budi Surakarta, kemudian melanjutkan S2 pada Jurusan Farmasi Sains lulus tahun 2020 di Universitas Setia Budi Surakarta. Penulis juga merupakan seorang praktisi, yang beprofesi sebagai Apoteker yang berpraktik di salah satu Apotek di Tulungagung dari tahun 2021 sampai sekarang. Menjadi seorang akademisi dan praktisi adalah cita-cita saya sedari kecil, karena didalam kedua profesi tersebut akan

BAKTERIOLOGI:

Pendekatan Siklus Kerja Analisis Kesehatan

selalu ada upgrade ilmu yang harus selalu dipelajari serta terdapat pengabdian masyarakat yang dapat memberikan manfaat bagi sekitar.

BIODATA PENULIS



Apt. Hendri Satria kamal Uyun M.Farm
Dosen Program Studi Biologi Farmasi
STIFARM Padang

Penulis lahir di Tanjung Pinang pada tanggal 9 Agustus 1993. Saat ini, Penulis menyelesaikan pendidikan Sarjana (S1) Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang, kemudian melanjutkan pendidikan Profesi Apoteker serta Magister (S2) di Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Beberapa mata kuliah yang diampu oleh penulis antara lain: Botani Farmakognosi 1, Farmakognosi 2, dan Fitokimia. Penulis juga telah menerbitkan sejumlah buku, di antaranya Farmakognosi, Ilmu Bahan Makanan, dan Ilmu Pangan.

Dalam menjalankan tridarma perguruan tinggi, khususnya di bidang penelitian, penulis berhasil memperoleh hibah Penelitian Dosen Pemula dari Kemdikbudristek melalui Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi, Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat untuk tahun 2023 dan 2024.

Selain itu, sejak tahun 2023 hingga saat ini, penulis juga menjabat sebagai Ketua Riset Pengembangan Obat Bahan Alam di STIFARM Padang. Penulis menyampaikan terima kasih kepada STIFARM Padang atas dukungan yang diberikan dalam penulisan dan penerbitan buku ini.