BUKU AJAR PRAKTIKUM VIROLOGI

Perkembangan Teknologi Laboratorium Virologi

DWI WAHYU INDRIATI

PENERBIT

# DAFTAR ISI

[DAFTAR ISI 1](#_Toc87958691)

[PRAKATA 2](#_Toc87958692)

[INTRODUKSI 4](#_Toc87958693)

[Deskripsi Singkat Mata Kuliah 4](#_Toc87958694)

[Capaian Pembelajaran Mata Kuliah 4](#_Toc87958695)

[Materi Pembalajaran 4](#_Toc87958696)

[Prasyarat Pembalajaran 5](#_Toc87958697)

[Materi di dalam Buku 5](#_Toc87958698)

[Bab I Pembelajaran dari Kasus Covid-19 6](#_Toc87958699)

[1. Skenario Penanganan Pandemi Covid-19 6](#_Toc87958700)

[2. Diagnosa Laboratorium 7](#_Toc87958701)

[GLOSARIUM 12](#_Toc87958702)

[DAFTAR PUSTAKA 13](#_Toc87958703)

[INDEKS 14](#_Toc87958704)

[PROFIL PENULIS 16](#_Toc87958705)

# PRAKATA

Identifikasi kuman pathogen merupakan salah satu kunci untuk menentukan penyebab infeksi terutama untuk mengantisipasi adanya pandemi masa mendatang. Kewajiban seorang ahli teknologi laboratorium adalah melakukan prosedur pre-analitik, analitik hingga post analitik untuk dapat membantu menegakkan diagnosa penyebab infeksi. Sehingga kemampuan untuk menentukan prosedur pemeriksaan dan bagaimana membaca hasil pemeriksaan mutlak harus dimiliki oleh seorang ahli teknologi laboratorium medis.

Buku ajar ini dipersiapkan untuk mata kuliah `Virologi ` yang diselenggarakan oleh program studi DIV Teknologi Laboratorium Medis`, Fakulltas Vokasi Universitas Airlangga dengan bobot 2 SKS. Pembaca sasaran buku ini adalah mahasiswa semester III yang telah mempelajari mata kuliah Virologi I sebelumnya. Pemahaman mengenai dasar-dasar sarana prasana yang ada pada laboratorium mikrobiologi, kriteria penggolongan fasilitas laboratorium, prosedur analisa virologi yang diperlukan untuk mengidentifikasi juga wajib dikuasai oleh mahasiswa sebelum menempuh mata kuliah ini. Materi yang ada di dalam buku ajar ini mencakup metode penilaian sampel klinis, metode analisis identifikasi oleh virus dapat mengidentiifikasi spesies yang ada pada sampel klinis.

Materi buku ajar ini disampaikan dalam dua bab yang dilengkapi dengan pelatihan, penugasan (mandiri dan berkelompok) serta refleksi pembelajaran. Adapun dua bab yang disampaikan dalam buku ajar ini bagaimana pembelajaran yang dapat kita ambil dari pandemic covid-19 yang telah terjadi dan perkembangan teknologi diagnosis bidang molekuler dan penggunaan alat otomatis pada pemeriksaan laboratoroium*.* Buku ajar ini dilengkapi dengan gambar-gambar untuk memperjelas pemahaman pembaca serta dilengkapi dengan scan QR barcode yang akan menghubungkan dengan video demonstrasi analisa sampel, serta pemeriksaan molekuler untuk mengidentifikasi virus pada sampel klinis. Selain itu, buku ini juga menyajikan studi kasus-kasus identifikasi bakteri gram negative dari sampel kllinis dengan prosedur pemeriksaan terkini.

Penulis berharap buku ini dapat digunakan sebagai bahan pembelajaran formal bidang mikrobiologi khususnya untuk pengajaran calon ahli teknologi laboratorium medis. Prosedur identifikasi pathogen lain berkaitan dengan jenis-jenis sampel klinis yang tidak ditemukan pada buku ini dapat dipelajari pada buku ajar selanjutnya.

**Surabaya, 15 November 2021**

**Dwi Wahyu Indriati**

# INTRODUKSI

Penggunaan buku ini sebagai bahan ajar mengacu pada Rencana Pembelajaran Semester (RPS) di Fakultas Vokasi Universitas Airlangga. Sebelum menggunakan buku ajar ini sebaiknya mahasiswa perlu memahami penjelasan terkait perkuliahan `Praktikum Bakteriologi III`.

## Deskripsi Singkat Mata Kuliah

Ruang lingkup materi praktikum bakteriologi III meliputi identifikasi bakteri golongan Enterobacteriaceae seperti *E. coli, Klebsiela, Enterobacter, Salmonella, Shigella, Proteus, Pseudomonas.* Proses identifikasi dilakukan dengan mengkultur sampel pada media selektif seperti media MacConkey, Salmonella Shigellla Agar. Kemudian setelah tumbuh dilanjutkan dengan uji biokimia yang dapat meliputi uji TSI, uji indol, uji urea, uji MR/VP, uji motilitas, uji sitrat serta uji antisera untuk golognan *Salmonella*.

## Capaian Pembelajaran Mata Kuliah

Mampu melakukan pemeriksaan sampel biologis (tahap analitik) untuk mengidentifikasi bakteri pathogen gram negatif enterik dengan memilih metode pemeriksaan yang sesuai jenis spesimen, serta menganalisis hasil pemeriksaan (tahap pasca analitik) untuk mendapatkan informasi yang valid sesuai standar mutu yang berlaku.

## Materi Pembalajaran

Berikut ini materi pembelajaran untuk mata kuliah `Praktikum Bakteriologi III`

1. Pengenalan Bakteri Gram Negatif
2. *Escherichia*
3. *Klebsiella*
4. *Enterobacter*
5. *Salmonella*
6. *Shigellla*
7. *Proteus*
8. *Pseudomonas*

## Prasyarat Pembalajaran

Mahasiswa telah mengikuti mata kuliah `Bakteriologi I` dan Bakteriologi II` untuk dapat mengikuti pembelajaran pada mata kuliah ini. Pengetahuan, keterampilan umum dan khusus serta sikap pada mata kuliah `Bakteriologi I` dan `Bakteriologi II` diperlukan dikarenakan mata kuliah Bakteriologi III merupakan kelanjutan dari pembelajaran dua mata kuliah pendahulunya dengan memfokuskan pada bakteri gram negatif enterik.

## Materi di dalam Buku

Buku ajar ini merupakan bahan ajar primer untuk mata kuliah `Praktikum Bakteriologi III`. Materi di dalam buku ini terdiri atas teori, praktikum, pelatihan, penugasan dan refleksi pembelajaran yang disampaikan dalam bab-bab pembelajaran. Mahasiswa dapat menambahkan buku ajar lain sebagai bahan pembelajaran pendamping atau bahan pembelajaran sekunder.

# Bab I Pembelajaran dari Kasus Covid-19

Capaian Pembelajaran :

Mahasiswa mampu karakteristik bakteri gram negatif serta metode diagnosa untuk identifikasi bakteri golongan gram negatif

Pada kelas ini anda akan dikenalkan dengan bakteri-bakteri gram negative enterik yang ditemukan pada sampel klinis untuk mendukung diagnosa penyebab infeksi saluran pencernaan. Tentu saja sebelumnya anda sudah harus memahami bagaimana cara mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan untuk mengkultur sampel klinis ataupun bagaimana cara melakukan pengecatan dan mengkultur sampel pada media serta bagaimana membaca hasil kultur yang telah dipelajari pada semester 1.

Pada pembelajaran bab ini akan dikenalkan dengan karakteristik umum dari bakteri-bakteri yang termasuk ke dalam golongan yang ada pada familia Enterobacteriaceae. Selain itu anda akan diperkenalkan dengan beberapa media yang dapat digunakan untuk mengisolasi bakteri golongan enterobacteriaceae serta uji-uji biokimia yang diperlukan untuk mengidentfikasi spesies bakteri yang ditemukan pada sampel klinis anda periksa.

### 1. Skenario Penanganan Pandemi Covid-19

Bakteri-bakteri enteric yang tergabung dalam familia enterobacteriaceae memililki karakteristik berbentuk batang gram negatif dan habitat normalnya berada pada saluran pencernaan. Beberapa genus yang termasuk di dalam familia ini antara lain *Escherichia, Shigella, Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Proteus.* Golongan famili Enterobacteriaceae merupakan golongan kuman fakultatif aerob atau anaerob, memfermentasi karbohidrat, memiliki struktur antigenik yang kompleks serta memproduksi berbagai macam toxin dan faktor virulensi yang lainnya. Golongan enterobacteriaceae ini juga dikenal dengan sebutan coliforms. *Escherichia coli*  merupakan flora normal meskipun terkadang dapat menyebabkan penyakit tetapi genus *Salmonella dan Shigela* bersama dengan *Staphylococcus* dan *Streptococcus* merupakan golongan kuman pathogen (Brooks et al, 2016).

Anggota dari famili Enterobacteriaceae memiliki karakteristik sebagai berikut: merupakan gram negatif, motil (memiliki flagella) ada juga yang tidak, tumbuh pada media yang mengandung ekstrak daging atau pepton tanpa penambahan sodium klorida atau suplemen yang lain, tumbuh baik pada media MacConkey, fakultatif aerob atau anaerob, memfermentasi glukosa yang terkadang juga ditandai dengan adanya produksi gas, katalase positif dan oksidase negatif (kecuali Plesiomonas), mereduksi nitrat. Pada perkembangannya dengan menggunakan *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectroscopy* (MALDI-TOF MS), sebagai pengganti identifikasi kultur isolat dengan cara tradisional, identifikasi sebagian besar golongan Enterobacteriaceae dapat dengan mudah dilakukan kecuali spesies *Shigella.* Teknologi MALDI-TOF MS ini tidak dapat membedakan *Shigella* dengan *E. coli*

Gambar 1. Bakteri yang memfermentasi laktoosa akan terlihat berwarna merah muda (kiri) sedangkan yang tidak memfermentasi laktosa akan terlihat tidak berwarna

Golongan Enterobacteriaceae dapat dibedakan berdasarkan kemampuan mereka dalam memfermentasi laktosa (seperti terlihat pada gambar 1). Media-media yang sering digunakan untuk membedakan kedua golongan ini adalah EMB, MacConkey agar , TSI (*Triple Sugar Iron*) agar serta SS (*Salmonella Shigella*) agar. MacConkey agar mengandung garam empedu, crystal violet, laktosa serta pH indikator *neutral red*. Kandungan garam empedu serta crystal violet dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Sedangkan kandungan laktosa merupakan media diferensial utama dengan pH indikator yang dalam suasana asam dapat mengakibatkan terbentuknya warna merah muda (positif memfermentasi laktosa). Sedangkan pada golongan yang tidak memfermentasi laktosa maka akan terlihat koloni yang tidak berwarna.

### 2. Diagnosa Laboratorium

Untuk menegakkan diagnosa penyebab infeksi akibat golongan bakteri gram negative enterik ini maka sampel klinis yang dapat digunakan antara lain feses, swab feses, darah, urine, pus. Konfirmasi keberadaan bakteri ini dapat dilakukan juga dengan pengecatan gram yang menghasilkan bakteri gram negatif.

Golongan bakteri enterik ini dapat ditumbuhkan pada media spesifik dan diferensial. Dikatakan media spesifik karena hanya dapat ditumbuhi oleh bakteri gram negatif dan memiliki kandungan untuk menghambat bakteri gram positif. Sedangkan media dikatakan diferensial dikarenakan adanya kandungan bahan tertentu yang dapat membedakan bakteri yang satu dengan bakteri yang lain, sebagai contoh kandungan laktosa akan membedakan bakteri berdasarkan kemampuan memfermentasi laktosa tersebut.

**A. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri golongan enterobacteriaceae**

**1.** **Media MacConkey**

**Prinsip penanaman pada media MacConkey**

**2. Media Salmonella Shigella**

**Prinsip penanaman pada media Salmonella Shigella :** Dengan adanya kandungan **garam empedu** serta cat **(brilliant green)** akan menghambat kuman gram positif dengan derajat penghambatan yang bervariasi bergantung pada spesies kuman tersebut. Perbedaan kuman enterik ini diperoleh dengan kemampuan kuman untuk memfermentasi laktosa ataupun tidak. Organisme yang **memfermentasi laktosa** dengan adanya indikator **neutral red**, akan menghasilkan koloni **berwarna merah/pink**. Sedangkan kuman **yang tidak memfermentasi laktosa** akan menghasilkan **koloni yang tidak berwarna**. Kandungan **sodium thiuosufate serta ferric citrate** akan memudahkan dektesi **hidrogen sulfida** yang terlihat dngan **koloni yang bagian tengahnya berwarna hitam**.

**3. Media Eosin Methylene Blue**

Media EMB ini digunakan untuk membedakan bakteri Escherichia coli dengan bakteri non- patogen gram negatif memfermentasi laktosa serta genus Salmonella dan Shigella.

**Prinsip penanaman pada media EMB:** Dengan adanya kandungan **eosin dan metilen biru** dapat menghambat bakteri gram positif tetapi tidak menghambat bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif yang dapat **memfermentasi laktosa** akan menghasilkan asam yang mengubah **koloni menjadi ungu tua**. Beberapa bakteri memfermentasi laktosa akan menghasilkan **koloni yang datar, berwarna gelap dengan kemilau metalik hijau**. Bakteri fermentasi laktosa lainnya menghasilkan **koloni yang lebih besar, mucoid** serta adanya warna **ungu** pada bagian tengahnya. Bakteri yang tidak memfermentasi laktosa akan menghasilkan koloni yang tidak berwarna atau berwarna lavender muda.

**B. Uji Biokimia**

Untuk konfirmasi spesies bakteri yang ditemukan pada sampel klinis setelah berhasil diinokulasi pada media spesifik maka perlu dilakukan beberapa uji biookimia. Uji-uji biokimia yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies bakteri tersebut antara lain:

**1.UJI TSI (Triple Sugar Iron)**

Uji TSI ini bertujuan untuk mengidentifikasi kuman berdasarkan kemampuannya untuk memfermentasi gula(laktosa, sukrosa, glukosa) dan memproduksi gar H2S. Medium ini mengandung phenol red sebagai indikator pH yang dapat mengubah warna media dari merah orange menjadi kuning dalam suasana asam. Glukosa berada di dasar media sedangkan laktosa dan sukrosa berada di bagian lereng.

Intrepretasi hasil dari uji ini adalah sebagai berikut :

* 1. Hanya memfermentasi glukosa bila pada dasar media berwarna kuning (bersifat asam) dan lereng (slant) berwarna merah (bersifat basa) -🡪 Al/Ac atau K/A
  2. Memfermentasi semua karbohidrat : bila pada dasar media berwarna kuning (bersifat asam) dan lereng berwarna kuning (asam) 🡪 Ac/Ac atau A/A
  3. Tidak memfermentasi semua karbohidrat : bila pada dasar media berwarna merah (bersifat basa) dan lereng berwarna merah (bersifat basa)-🡪 Al/Al atau K/K

Fermentasi pada TSIA juga disertai dengan pembentukan gas CO2 yang dapat dilihat dari pecahnya dan terangkatnya agar. Media TSI juga dapat digunakan untuk mengetahui pembentukan H2S yaitu melihat apakah kuman memfermentasi metionin dan sistein (asam amino yang mempunyai gugus S). Pada media TSI terdapat asam amino metionin dan sistein, jika kuman memfermetnasi kedua asam amino ini maka gugus S akan keluar dan gugus S akan bergabung dengan H2O membentuk H2S. Selanjutnya H2S bergabung dengan Fe2+ membentuk FeS berwarna hitam dan mengendap.

**2.** **Uji Indol**

Uji indol digunakan untuk mengetahui apakah kuman mempunyai enzim triptophanase yang dapat digunakan untuk mengoksidasi asam amino triptophan membentuk indol. Adanya indol diketahui dengan penambahan reagen Ehrlich/Kovac yang berisi paradimetil amino bensaldehid. Media yang dipakai adalah pepton 1%.

Interpretasi Hasil:

1. Negatif bila tidak terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan, berarti bakteri tidak membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon
2. Positif terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan, sehingga bakteri ini dapat membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon.
3. **Uji Methyl Red (MR)**

Media yang digunakan adalah pepton glukosa phosphat. Uji ini digunakan untuk mengetahui adanya fermentasi asam campuran (metilen glikon). Interpretasi Hasil:

1. Negatif (-): Tidak terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambah methyl red 1%
2. Positif (+): Terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan methyl red 1%. Artinya bakteri menghasilkan asam campuran (metilen glikon) dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam media MR.
3. **Uji Voges Proskauer (VP)**

Media yang dipakai adalah pepton glukosa phosphat. Uji ini digunakan untuk mengetahui pembentukan asetil metil karbinol (asetoin) dari hasil fermentasi glukosa. Interpretasi Hasil:

1. Negatif (-) : Tidak terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan α-naphtol 5% dan KOH 40%.

2. Positif (+): Terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan α naphtol 5% dan KOH 40%, artinya hasil akhir fermentasi bakteri adalah asetil metil karbinol (asetoin).

**5. Uji Sitrat**

Media yang dipakai adalah Simons citrat. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah kuman menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Pada media Simons citrat berisi indikator BTB (Brom Tymol Blue). Apabila bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon maka media berubah menjadi basa dan berubah warna menjadi biru. Interpretasi Hasil:

1. Negatif (-): Tidak terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Artinya bakteri ini tidak mempunyai enzim sitrat permease yaitu enzim spesifik yang membawa sitrat ke dalam sel. Sehingga kuman tidak menggunakan citrat sebagai salah satu/satu-satunya sumber karbon
2. Positif (+): Terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru, artinya kuman menggunakan citrat sebagai salah satu/satu-satunya sumber karbon.

**6. Uji Urease**

Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah kuman mempunyai enzim urease yang dapat menguraikan urea membentuk amoniak. Media urea berisi indikator phenol red. Interpretasi Hasil:

1. Negatif (-): Tidak terjadi perubahan warna media menjadi pink/merah jambu, artinya kuman tidak memecah urea membentuk amoniak.
2. Positif (+): Terjadi perubahan warna media menjadi pink/merah jambu, artinya kuman memecah urea membentuk amoniak

**7. Uji Motilitas**

Media yang dipakai adalah media yang bersifat semi solid dengan kandungan agar-agar 0,2-0,4%. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui gerak kuman, bisa memakai media MO (Motilitas Ornitin) atau SIM (Sulfida Indol Motility). Pada media SIM selain untuk melihat motilitas bisa juga untuk test indol dan pembentukan H2S.  Interpretasi hasil:

1. Negatif (-): Terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar hanya pada bekas tusukan inokulasi.
2. Positif (+): Terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi. Hal ini menunjukan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagel.

# GLOSARIUM

|  |  |
| --- | --- |
| anomali | penyimpangan dari keseragaman sifat fisik, sering menjadi perhatian eksplorasi (misalnya anomali waktu-lintas, anomali magnetik) |
| biota | keseluruhan flora dan fauna yang terdapat di dalam suatu daerah |

# DAFTAR PUSTAKA

Trim, Bambang. 2020. *Apa dan Bagaimana Menerbitkan Buku: Catatan Seperempat Abad di Jalan Buku.* Solo: Epigraf Komunikata Prima.

Tempo. 2019. *tempo.co.* Accessed Februari 12, 2020. https://nasional.tempo.co/read/1264063/rapat-perdana-di-kemendikbud-begini-arahan-nadiem-makarim.

*Daftar pustaka di atas disusun dengan menggunakan fasilitas References-Bibliography dengan styel Chicago 16th Edition. Jangan lupa untuk menginput data dengan mengklik Insert Citation pada teks yang akan dirujuk di dalam daftar pustaka.*

# INDEKS

Amet, 2, 4, 6

arcu dui, 2, 5, 7

bibendum, 2, 4, 5, 7

Facilisis, 2, 4, 6

Lorem, 2, 4, 6

# PROFIL PENULIS