

# TOPIK 1

## PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PERTEMUAN KE : 1 (1x2.5 jam)

**TOPIK : Bakteri Kokus Gram Positif**  
**SUB TOPIK : *Staphylococcus sp. sp. dan***  
***Streptococcus sp.***

### **Tujuan Instruksional Umum:**

Mahasiswa mampu menjelaskan beberapa spesies bakteri coccus Gram positif, morfologinya, macam-macam penyakit dan patogenesisnya.

### **Tujuan Instruksional Khusus:**

Mahasiswa setelah melakukan praktikum diharapkan dapat:

1. Mengidentifikasi bakteri coccus Gram positif
2. Menyebutkan dan menjelaskan beberapa spesies bakteri coccus Gram positif
3. Menjelaskan penyakit-penyakit yang disebabkan bakteri coccus Gram positif dan patogenesisnya.
4. Menjelaskan cara menegakkan diagnosis dengan pemeriksaan mikrobiologi (gejala klinis, pengambilan spesimen, pemeriksaan mikrobiologi) pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri kokkus Gram positif.
5. Menginterpretasikan hasil pemeriksaan mikrobiologi.

## MATERI:

### ***Staphylococcus sp.***

*Staphylococcus sp.* adalah kuman berbentuk bulat, Gram positif, biasanya tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur. Kuman ini mudah tumbuh pada berbagai media, meragi beberapa karbohidrat, membentuk pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua kadang-kadang ungu. Beberapa diantaranya tergolong flora normal kulit dan selaput lendir manusia, tapi ada yang dapat menyebabkan abses bahkan septikemia yang fatal. *Staphylococcus sp.* patogen sering menghemolisa darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan enzim dan toksin. Beberapa spesies menyebabkan keracunan makanan dengan memproduksi enterotoksin yang bersifat tahan panas. *Staphylococcus sp.* cepat resisten terhadap banyak anti mikroba dan menyebabkan kesulitan dalam pengobatan.

#### **a. Morfologi**

Morfologi *Staphylococcus sp.* yang khas :

- Bentuk** : Bulat, diameter 1mm
- Sifat pengecatan** : Gram positif, makin tua makin kearah Gram negatif
- Susunan** : Memiliki susunan yang khas menggerombol seperti buah anggur. Tapi dapat juga tunggal, berpasangan, membentuk rantai pendek (3 – 4 sel) atau berempat. Susunan yang tidak khas tersebut terutama bila preparat dibuat dari media cair.

#### **b. Penanaman**

*Staphylococcus sp.* mudah tumbuh pada kebanyakan perbenihan bakteriologi dalam keadaan aerob atau mikroaerofilik. *Staphylococcus sp.* tumbuh paling cepat pada 37°C tetapi pembentukan pigmen optimal pada suhu kamar (20°C-25°C). Koloni pada pembenihan padat berbentuk bulat, halus, menonjol, dan mengkilat, dalam berbagai pigmen. Warna koloni tidak selalu dapat untuk menentukan spesies *Staphylococcus sp.* . Banyak koloni hanya membentuk pigmen pada pengeraman 20°C yang lama. Diameter koloni antara 1– 3 mm, dapat mencapai diameter 10 mm setelah inkubasi 5 hari. Beberapa strain membentuk hemolisa dalam berbagai tingkatan.

#### **c. Sifat-sifat pertumbuhan**

*Staphylococcus sp.* menghasilkan enzim katalase, sifat ini dapat membedakannya dengan Streptococcus. Meragikan banyak karbohidrat secara lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. *Staphylococcus sp.* relatif resisten terhadap pengeringan, panas (kuman ini tahan 50°C selama 30 menit), dan terhadap 9% NaCl, tetapi dihambat oleh zat-zat kimia seperti heksaklorofen 3%.

Enzim katalase akan menguraikan hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen.



#### d. Struktur antigen

*Staphylococcus sp.* mengandung antigen polisakarida dan protein yang memungkinkan penggolongan strain-strain dalam batas tertentu. Asam teikoat (polimer gliserol atau ribitol fosfat) yang berikatan dengan peptidoglikan dapat bersifat antigenik. Kebanyakan zat ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus sp.* juga merupakan antigen.

#### e. Produk-produk ekstraseluler

*Staphylococcus sp.* dapat menimbulkan penyakit karena kemampuan berbiak, menyebar luas dalam jaringan dan juga pembentukan banyak zat ekstraseluler. Beberapa diantara zat-zat ekstrasel tersebut adalah enzim dan toksin.

Diantara enzim dan toksin tersebut adalah :

1. **Katalase:***Staphylococcus sp.* menghasilkan katalase, yang dapat merubah hidrogen peroksidase menjadi air dan oksigen.
2. **Koagulase:***S.aureus* mampu menghasilkan koagulase, suatu enzim yang dapat menjendalkan plasma oxalat atau plasma sitrat dengan bantuan *coagulase eracting factor (CRF)*, suatu derivat dari molekul trombin. Jendalan terjadi akibat adanya aktivasi CRF dalam plasma, membentuk kompleks CRF koagulase yang bereaksi dengan fibrinogen membentuk jendalan fibrin.
3. **Enzim-enzimlain:** hialuronidase (spreading faktor), fibrinolysin/staphylokinase yang mengakibatkan fibrinolisis menghasilkan proteinase, lipase, dan beta laktamase.
4. **Eksotoksin:**beberapa toksin yang mematikan binatang pada penyuntikan, menyebabkan nekrosis pada kulit, dan mengandung beberapa hemolisin.
5. **Lekosidin:**toksin yang dapat mematikan sel-sel darah putih pada berbagai spesies binatang yang berkontak dengannya.
6. **Enterotoksin:**hampir 50% strain *S.aureus* menghasilkan enterotoksin.

### Diagnosa Laboratorik

- a. **Bahan pemeriksaan :** usapan permukaan lesi, nanah, darah, aspirasi trakhea, cairan spinal atau tempat-tempat lain yang dicurigai.
- b. **Pemeriksaan langsung/mikroskopik :** bagi cairan berasal dari bagian

tubuh yang dalam keadaan normal steril, pemeriksaan akan memberikan hasil bernilai. Sedangkan bagi spesimen dari bagian tubuh non steril, hasil pemeriksaan langsung harus dikonfirmasi dengan pemeriksaan jumlah sel radang dibanding sel epitel.

Bila materi berasal dari pus/sputum, akan didapat morfologi *Staphylococcus sp.* yang khas yaitu, bakteri :

- bentuk : bulat
- sifat pengecatan : Gram positif
- susunan : menggerombol seperti buah anggur, berpasangan atau membentuk rantai pendek.

**c. Kultur :** Bahan ditanam pada lempeng agar darah menghasilkan koloni khas pada 18 jam dan suhu 37°C. Tetapi hemolisis dan pembentukan pigmen mungkin baru terjadi beberapa hari kemudian. Suhu optimal pembentukan pigmen 20-25°C. Dari bahan yang terkontaminasi dengan flora normal campuran, dapat dipisahkan dengan perbenihan dalam media yang mengandung NaCl 7,5%.

**d. Tes katalase :** teteskan hidrogen peroksida pada gelas alas ditambah pertumbuhan kuman. Tes dinyatakan positif bila terjadi gelembung udara (pelepasan oksigen).

**e. Tes koagulase :** plasma manusia yang telah diberi sitrat, diencerkan dengan biakan kaldu yang sama banyaknya dan dieramkan pada 37°C. Suatu tabung plasma dicampur dengan kaldu steril dieramkan sebagai kontrol. Bila terjadi jendalan dalam waktu 1-4 jam, berarti tes positif.

Kemampuan menggumpal plasma seringkali digunakan sebagai kriteria umum dalam penentuan patogenitas *Staphylococcus sp.* dalam hubungan dengan infeksi akut ; misalnya *S.aureus* **patogen pada manusia dan hewan**. *S.intermedius*, *S.hycuus* pada hewan, ketiga spesies tersebut menghasilkan enzim koagulase. Dalam bidang mikrobiologik klinik, uji koagulase ini digunakan untuk membedakan *S.aureus* dengan spesies lainnya, karena diantara spesies *Staphylococcus sp.* yang berkaitan dengan kesehatan manusia hanya *S.aureus* yang memiliki enzim koagulase.

*S.aureus* menghasilkan 2 macam enzim koagulase yakni koagulase terikat (bound), dan koagulase bebas (free). Koagulase terikat atau faktor penjendal (*clumping factor*) terikat pada dinding sel bakteri, bila suspensi bakteri dicampur dengan plasma enzim ini mampu menggumpalkan fibrinogen. Karena faktor ini bakteri dapat membentuk deposit fibrin di permukaan *Staphylococcus sp.* , diduga untuk mencegah serangan sel fagosit tuan rumah. Koagulase bebas adalah enzim ekstraseluler yang berfungsi menjendalkan koloni *S.aureus* dalam reaksinya dengan adanya fibrin.

**f. Tes kepekaan terhadap novobiocin :** Pemeriksaan ini bertujuan untuk *S.saprophyticus* dengan *S.epidermidis*; *S.saprophyticus* resisten terhadap novobiocin sedang *S.epidermidis* sensitif.

**g. Tes mannitol :** Pemeriksaan ini dapat untuk mengganti tes koagulase, *S.aureus* dapat mengadakan fermentasi manitol dalam keadaan anaerob. Cara pemeriksaan :

- 1 koloni kuman diinokulasikan pada agar manitol dengan menusukkan ke bawah

tabung.

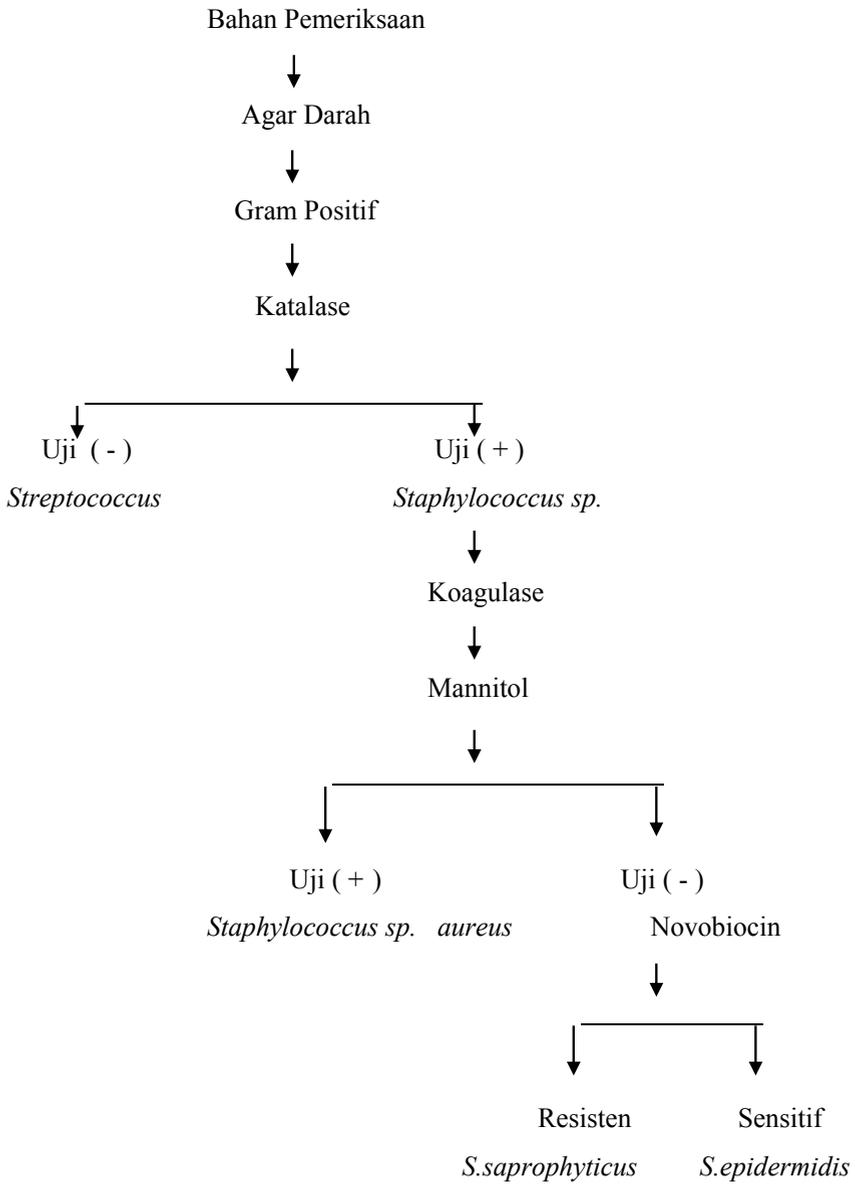
- Diinkubasikan 37°C selama 24-48 jam.

- Tes dinyatakan positif bila terjadi perubahan warna menjadi kuning.

### **Arti Klinik**

Infeksi kulit karena *S.aureus* sering ditemukan, meliputi cellulitis, pustula, bisul, impetigo, dan luka pasca bedah. Bakteri ini sering menyebabkan pula keracunan makan, karena enterotoksin yang diproduksi selama pertumbuhannya. Sering pula terlihat proses endokarditis, bakterimia, meningitis, dan infeksi nosokomial. *S.saprophyticus* mempunyai kemungkinan sebagai penyebab uritritis non gonokokal pada pria.

**Pemeriksaan Laboratoris *Staphylococcus sp.* :**



## ***Streptococcus***

*Streptococcus* adalah kuman bentuk bulat, Gram positif, tersusun khas berderet seperti rantai. Beberapa diantaranya merupakan flora normal manusia; lainnya dihubungkan dengan penyakit-penyakit penting pada manusia. Terjadinya penyakit-penyakit tersebut dapat berupa infeksi atau hipersensitivitas. Kuman ini menghasilkan berbagai zat ekstraseluler dan enzim-enzim. Kemampuan menghemolisa sel-sel darah merah dalam berbagai tingkatan adalah salah satu dasar penting untuk klasifikasi.

### **Morfologi**

#### **a. Bentuk**

Kuman berbentuk bulat atau bulat telur, kadang menyerupai batang, tersusun berderet seperti rantai. Panjang rantai bervariasi dan sebagian besar ditentukan oleh faktor lingkungan. Rantai akan lebih panjang pada media cair dibanding media padat. Pada pertumbuhan tua atau kuman yang mati sifat Gram positifnya akan hilang dan menjadi Gram negatif.

Sebagian besar strain group A, B dan C menghasilkan kapsul yang terdiri dari asam hialuronat. Kapsul paling nyata pada biakan yang sangat muda. Kapsul ini menghalangi fagositosis. Dinding sel *Streptococcus* mengandung protein (antigen M, T, R), karbohidrat (spesifik group), dan peptidoglikan. Fili seperti rambut menonjol melalui kapsul *Streptococcus group A*. Fili tersebut sebagian besar terdiri dari protein M dan ditutupi asam lipoteikoat. Asam lipoteikoat sangat penting untuk membantu perlekatan *Streptococcus* pada sel epitel.

#### **b. Penanaman**

Kebanyakan *Streptococcus* tumbuh pada media padat sebagai koloni diskoid, biasanya berdiameter 0,1-1 mm. *Streptococcus group A* yang mempunyai kapsul, koloninya biasanya mukoid.

#### **c. Sifat-sifat pertumbuhan**

Pertumbuhan *Streptococcus* cenderung menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau dalam kaldu, kecuali diperkaya darah atau cairan jaringan. Kuman patogen bagi manusia memerlukan bermacam-macam faktor pertumbuhan pada inkubasi dengan CO<sub>2</sub> 10%, pertumbuhan dan hemolisa terjadi lebih sempurna.

#### **d. Struktur Antigen**

Streptokokus hemolitik dapat dibagi dalam grup-grup serologik (A-U), dan grup-grup tertentu dapat dibagi lagi menjadi berbagai tipe. Beberapa zat antigen yang ditemukan :

1. Karbohidrat C: terdapat dalam dinding sel dari banyak *Streptococcus* dan merupakan dasar pembagian pada group

serologik (*Lancefield group A-U*).

2. Protein M: erat hubungannya dengan virulensi *Streptococcus group A*, terutama terdapat pada organisme yang menghasilkan koloni suram atau mukoid.

Protein M menentukan tipe *Streptococcus group A*, dengan reaksi aglutinasi atau presipitasi dan menggunakan serum spesifik tipe M. Terdapat lebih dari 60 tipe *Streptococcus group A*, tipe-tipe diberi tanda dengan angka arab. Pada manusia, antibodi terhadap protein M melindungi terhadap infeksi *Streptococcus group A*.

*Streptococcus group G*, mempunyai protein yang berkaitan dengan virulensinya, seperti protein M pada *Streptococcus group A*.

#### **e. Produk-Produk Ekstraseluler**

Lebih dari 20 produk ekstraseluler yang bersifat antigen dihasilkan oleh *Streptococcus group A*. Beberapa produk ekstraseluler tersebut adalah toksin dan enzim, diantaranya yang penting adalah :

- a. Streptokinase (fibrinolisin): dihasilkan oleh banyak strain *Streptococcus beta-hemolitik*. Zat ini mengubah plasminogen serum manusia menjadi plasmin, suatu enzim proteolitik aktif yang menghancurkan fibrin dan protein protein lain.
- b. Streptodornase (deoksiribonuklease dari *Streptococcus*): enzim yang mempunyai aktifitas depolimerase AND.
- c. Hialuronidase: enzim yang memecah asam hialuronat, suatu komponen penting bahan dasar jaringan ikat. Jadi hialuronidase membantu penyebaran jasad renik (*spreading factor*).
- d. Toksin eritrogenik (eksotoksin A-C pirogenik): mudah larut dan mudah dirusak oleh pendidihan selama 1 jam. Toksin ini menyebabkan ruam yang terdapat pada febris skarlatina.
- e. Hemolisin: sebagian besar *Streptococcus* mampu menghemolisa sel-sel darah merah *in vitro* dalam berbagai tingkatan. Perusakan total eritrosit dengan mengeluarkan hemoglobin dinamakan beta-hemolisis. Lisis tidak sempurna eritrosit dengan pembentukan pigmen hijau dinamakan alfa hemolisis.

*Streptococcus beta hemolitik group A* mengeluarkan 2 hemolisin (streptolisin):

- a. Streptolisin O, adalah protein (berat molekul 60000) yang secara aktif menghemolisa dalam keadaan tereduksi tetapi dengan cepat menjadi tidak aktif bila teroksidasi.
- b. Streptolisin S, adalah penyebab zona hemolitik sekitar koloni *Streptococcus* pada agar darah.

## Klasifikasi *Streptococcus*

Klasifikasi *Streptococcus* secara praktis dalam kategori-kategori utama dapat didasarkan pada :

1. Morfologi koloni dan hemolisa pada agar darah
2. Tes-tes biokimia dan resistensi terhadap faktor-faktor fisik dan kimia
3. Sifat-sifat imunologik
4. Gambaran ekologi

Dengan kombinasi dari ke-4 hal tersebut di atas dapatlah disusun klasifikasi sebagai berikut :

### 1. *Streptococcus* Beta-hemolitik

Kuman ini menghasilkan hemolisin yang dapat dikenal dengan mudah pada agar darah dan juga menghasilkan karbohidrat C. Kuman-kuman di bawah ini adalah beberapa group *Streptococcus beta-hemolitik* yang ada hubungan dengan kedokteran :

#### a. Group A

*Streptococcus pyogenes*, paling patogen dibanding *Streptococcus* yang lain. Dapat menyebabkan infeksi lokal atau sistemik dapat berakibat kelainan paska *Streptococcus*. Kuman ini biasanya sensitif terhadap basitrasin. Pada agar darah kambing koloninya khas dengan adanya daerah hemolisa beta yang lebar.

#### b. Group B

*Streptococcus agalactica*, flora normal dari saluran kelamin wanita. Dapat menjadi penyebab yang penting pada sepsis dan meningitis neonatal. Kuman ini menghidrolisa natrium hipurat, jarang pekan terhadap basitrasin, dan memberikan respon yang positif terhadap tes CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen). Pada agar darah (kambing), koloninya dikelilingi daerah hemolisa beta yang sempit.

#### c. Group D

Termasuk enterococcus (misalnya *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*) dan non-enterokokus (misalnya *Streptococcus bovis*, *Streptococcus aquinus*). Pada agar darah kambing hampir semua *Streptococcus* group D menunjukkan hemolisa alfa atau tidak menghemolisa eritrosit. Hemolisa beta dapat terbentuk pada agar darah kuda atau kelinci. *Enterococcus* khas tumbuh pada NaCl 6,5% atau empedu 40%, dihambat oleh penisilin tapi tidak dibunuh. Kuman ini terdapat sebagai flora normal dalam usus. Ditemukan pada infeksi saluran air kemih, infeksi kardiovaskuler dan meningitis. Non-enterokokus dihambat oleh NaCl 6,5% atau empedu 40% dan dengan cepat dimatikan oleh penisilin. Kuman ini menyebabkan infeksi saluran air kemih atau endokarditis.

## 2. *Streptococcus* alfa-hemolitik

Kuman ini biasa menunjukkan hemolisa alfa pada biakan agar darah atau tanpa hemolisa. Beberapa *Streptococcus* alfa-hemolitik yang utama adalah :

- a. *Streptococcus pneumoniae* (pneumokokus), larut dalam empedu, dan pertumbuhannya dihambat oleh cakram optokhin (etil hidrikuprein hidroklorida).
- b. *Streptococcus viridans*, termasuk *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* (group H), dan lain-lain. Tidak larut dalam empedu, dan pertumbuhannya tidak dihambat oleh cakram optokhin.

### Pemeriksaan Laboratorik

#### 1. Bahan Pemeriksaan

Diambil sesuai keperluan pemeriksaan. Usap tenggorok, nanah atau darah diambil untuk biakan. Serum untuk penetapan antibodi.

##### a. Metode Pengambilan

Tehnik pengusapan tenggorok sangat penting untuk mendapatkan isolat streptokoki dari spesimen. Kegagalan yang sering terjadi sehingga diperoleh spesimen secara adekuat adalah: (1) pengusapan lebih mengenai lidah atau jaringan uvula daripada faring; (2) pembukaan faring kurang benar. Mulut harus dibuka dengan benar agar memungkinkan bagi pengusapan daerah faring. Tonsil dan faring diusap dengan kapas lidi atau *dacron tipped applicator (swab)*, lidah dan uvula dihindari. Adanya eksudat sebaiknya diambil dengan kapas lidi.

Kultur dari hidung diambil dengan kapas lidi steril bertangkai lentur, sebelumnya telah dibasahi dengan akuades steril atau salin. Ujung hidung dipegang dengan satu tangan, kemudian kapas lidi dimasukkan secara hati-hati sepanjang dinding rongga hidung, diputar perlahan, sampai dinding faringeal tersentuh.

Spesimen kulit terbaik adalah yang berasal dari lesi kulit dengan cara mengangkat kerak (*crusts*) dari pustula atau membuka gelembung kecil (*vesicula*). Kapas lidi steril digosokkan dengan tekanan pada bagian dalam lesi.

##### b. Transport

Metode transportasi spesimen usapan ke laboratorium tergantung pada :

(1)sumber spesimen; (2)waktu yang diperlukan untuk transport; dan (3) kecurigaan terhadap bakteri penyebab.

*Streptococcus* akan cukup tahan pada lingkungan kering. Spesimen berupa kapas lidi dapat dimasukkan dalam kantong kertas steril atau tabung steril untuk ditransportasi ke laboratorium, tetapi bila pada hari berikutnya atau jika terdapat patogen lain dicurigai, misalnya pada infeksi luka, medium penyangga seperti *Stuart* atau *Amies* medium sangat diperlukan. Jika spesimen usapan ini membutuhkan transit lebih dari 1 hari, sangat diperlukan penggunaan silika-gel atau sistem transport dengan kertas filter kering. Sistem ini dapat digunakan untuk spesimen usapan kulit atau tenggorok.

#### c. Penyimpanan

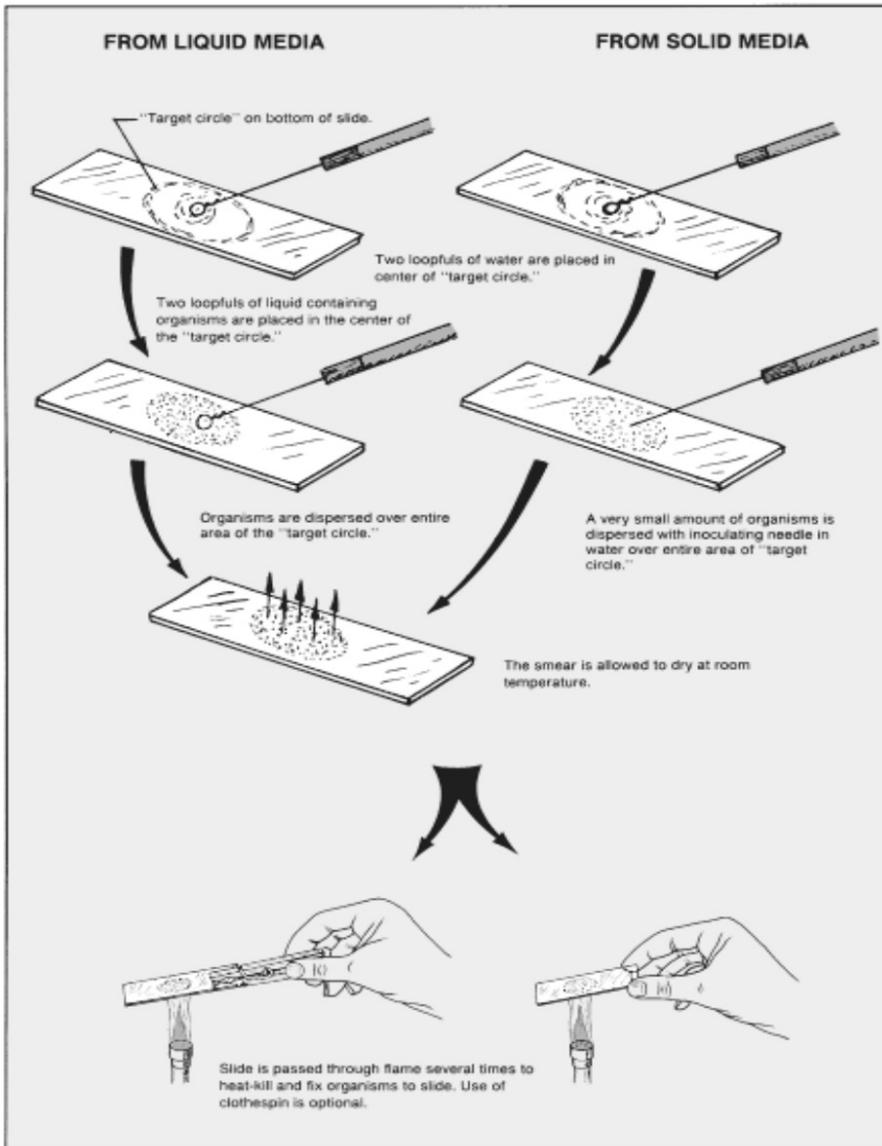
Kebanyakan streptokoki tahan beberapa bulan dalam agar darah miring tertutup rapat yang disimpan dalam 4°C. Kecuali bagi pneumokokal dan beberapa strain *Streptococcus viridans* tidak dapat bertahan lebih dari satu minggu. Tidak satupun strain *Streptococcus* dapat bertahan dalam kultur kaldu (*broth culture*): beberapa strain mati setelah 3-4 hari saja.

## 2. Pemeriksaan mikroskopik/langsung

Pengecatan Gram dari bahan sputum sangatlah bernilai tinggi bagi identifikasi pneumokoki, jika ditambahkan data mengenai jumlah sel lekosit polimorfonuklear. Sputum sebaiknya dihomogenisasi dengan 1-2 ml saline steril. Homogenisasi dapat dilakukan dengan menggunakan *syringe*, kemudian dibubuhkan pada objek gelas, dikeringkan dengan dianginkan, difiksasi di atas lampu spiritus, dan dicat dengan tehnik Gram. Kokus Gram positif akan tampak tunggal, berpasangan atau rantai pendek yang merupakan indikasi *Pneumococcus*.

#### a. Pembuatan Preparat oles

Pada pemeriksaan mikroskop dengan pengecatan dimaksud agar terjadi kontras warna antara bakteri dengan sekitarnya, sehingga bakteri akan terlihat lebih jelas. Untuk melakukan pengecatan haruslah terlebih dahulu dibuat suatu preparat yang baik, tidak terlalu tebal, difiksasi dengan baik. Preparat dapat dibuat dari material langsung, tanaman pada media padat maupun media cair.



### b. Cara Pengecatan Gram

- Buatlah sediaan oles, tuanglah pada sediaan tersebut zat warna karbol-gentian-ungu (Gram A), biarkan 1 menit,
- Zat warna dibuang dan segera diberi larutan lugol (Gram B) (tanpa dicuci terlebih dahulu), biarkan 1 menit.
- Lugol dibuang dan sediaan dicuci dengan alkohol 96% (Gram C) sampai tidak ada lagi zat warna yang terlarut.
- Cuci dengan air bersih.
- Tuang larutan air fuchsin (Gram D) dan biarkan 1 menit .

- Cuci lagi dengan air sampai bersih.
- Keringkan dengan kertas saring, periksa di bawah mikroskop dengan lensa celup-minyak.
- Hasil pewarnaan : kuman Gram positif berwarna ungu dan kuman Gram negatif berwarna merah.

### 3. Penanaman

Bahan pemeriksaan ditanam pada agar darah. Biasanya setelah inkubasi 18-24 jam pada agar darah, koloni group A *Streptococcus* akan berdiameter 0,5 mm, transparan, jernih, bulat, tepi rata. Dikelilingi oleh zona hemolisis sempurna, 2-4 kali diameter koloni. Sifat koloni sangat tergantung pada medium yang digunakan dan suasana inkubasi. Koloni group B dikelilingi zona hemolisis lebih kecil, beberapa strain bahkan tidak melisis sel darah merah. *Streptococcus group D*, memiliki koloni lebih besar daripada koloni group A, agak gelap, beberapa strain mengkilap seperti koloni *Staphylococcus sp.* pada agar darah. Group D, dapat menunjukkan hemolisa tipe alfa, beta atau non hemolitik terhadap eritrosin. Zona beta hemolitik dan group D, biasanya lebih besar dibanding zona dari *Streptococcus* lainnya. Group F *Streptococcus* berkoloni kecil, dengan zona seperti group A yang juga mengelilingi koloni yang kecil-kecil.

*S. viridans* memiliki koloni dengan ukuran seperti group A, tampak mukoid, dan transparan atau mengkilat dan tidak jernih. Di sekitar koloni dikelilingi zona hemolisis alfa atau kadang-kadang non hemolitik. Koloni pneumokoki adalah bulat, rata, mukoid, dengan diameter kira-kira 1 mm. Bila kultur diinkubasi dalam sungkup berlilin, atau inkubator CO<sub>2</sub>, koloni akan dikelilingi zona agak lebar hemolitik alfa.

Perbedaan konsentrasi darah akan berpengaruh terhadap ukuran area kerusakan eritrosit (diameter zona hambat) dan akan mempengaruhi penentuan tipe hemolisis. Jika menggunakan metode goresan plat agar, penggunaan darah dengan konsentrasi rendah akan mempersulit perbedaan hemolisis alfa dan beta.

Tetapi konsentrasi darah yang tinggi dalam medium akan menyebabkan strain hemolitik beta tampak non hemolitik. Plat agar yang ideal untuk isolasi primer adalah yang mengandung 5% darah defibrinasi, dengan ketebalan kurang lebih 4 mm. Hemolisis sangat membantu identifikasi *Streptococcus*. Menurut Brown (1919), terdapat tiga tipe hemolisis :

- a. Alpha, suatu zona yang samar-samar di sekitar koloni, sering disertai perubahan warna media menjadi kehijau-hijauan atau kecoklat-coklatan. Lebar zona 1-2 mm, dengan tepi tidak jelas, disebabkan lisis sebagian dari eritrosit .

- b. Beta, suatu zona yang jernih tidak berwarna di sekitar koloni. Lebar zona 2-4 mm dengan tepi yang jelas, akibat lisis sempurna dari eritrosit.
- c. Gamma, tidak terjadi perubahan pada agar darah. Kadang-kadang dinamakan *Streptococcus indifferen* (*indifferent streptococci*).

Alpha Prime atau wide zona alpha (WZ), suatu zona kecil tepat di sekeliling koloni, disebabkan lisis sebagian dari eritrosit, dengan zona hemolisis sempurna di sebelah luarnya.

#### 4. Pemeriksaan Serologik

Beberapa alat pemeriksaan dapat dipakai untuk deteksi dengan cepat *Streptococcus* group A, B, C, D, E, F dan G. Dengan enzim atau secara kimiawi antigen dapat diekstraksi, kemudian dengan ELISA (*Enzim Linked Immuno Sorbent Assay*) atau aglutinasi dilakukan deteksi group-group *Streptococcus* tersebut. Pemeriksaan dapat dilakukan dengan cepat (1-4 jam), mempunyai sensitivitas sebesar 90-95%, spesifisitas 98-99%, bila dibanding dengan kultur, walaupun dapat cepat tetapi biaya mahal.

Peningkatan titer antibodi dapat diukur dengan pemeriksaan serologik, seperti anti streptolisin O (ASO/ASTO), anti-Nase, anti hialuronidase, anti streptokinase, antibodi tipe spesifik, anti-M dan lain-lain.

Dari tes serologik tersebut yang paling sering dipergunakan adalah ASTO. Antibodi terhadap beberapa antigen *Streptococcus* dan enzim-enzim dapat diukur dengan tes streptozim.

#### 5. Reaksi Quellung (reaksi pembengkaan kapsul)

Pneumokoki dapat diidentifikasi langsung dari cairan tubuh menggunakan uji quellung, dengan membubuhkan beberapa tetes kultur bakteri, suspensi sel atau cairan tubuh pada gelas benda. Tambah 1 ose antiserum, aduk, bubuhkan cat methylen biru dan campurkan. Tutuplah dengan gelas penutup, amati di bawah mikroskop dengan minyak imersi. Quellung positif dihasilkan dari ikatan polisakarida kapsular dengan antiserum spesifik, akan tampak kapsul yang membengkak. Reaksi ini biasanya digunakan untuk mendeteksi *S.pneumoniae*.

#### 6. Uji Basitrasin

Kepekaan terhadap basitrasin dapat digunakan sebagai uji awal untuk membedakan *Streptococcus beta-hemolitik group A* dan *Streptococcus non group A*. Dalam pengujian ini cakram basitrasin yang digunakan adalah cakram yang khusus digunakan untuk identifikasi

yakni yang mengandung 0,04 U. Media yang digunakan adalah media non selektif yang tidak beraktivitas sinergik dengan basitrasin dan tidak menghambat *Streptococcus group A*.

### **7. Uji Optochin**

Kepekaan *S.pneumoniae* terhadap optochin dapat digunakan untuk membedakan organisme ini dengan *S.viridans*. Dalam pengujian digunakan *optochin* yang dipasang ditengah petri agar darah yang telah diinokulasi dengan *S.viridans*, inkubasi 37°C, 18-24 jam dalam sungkup berlin. Adanya *Pneumococcus* akan tampak dari timbulnya *zone* hambatan disekitar cakram *optochin*, dengan diameter 16 mm. Bila kurang dari diameter tersebut, sebaiknya diuji lagi dengan uji *bile solubility*.

### **8. Uji Bile Solubility**

Pemeriksaan ini digunakan pula untuk membedakan *pneumococcus* dengan *S.viridans*. Uji ini berdasar pada sifat pneumococcus yang lisis dalam larutan empedu. Cara pemeriksaan adalah dengan membubuhkan 1-2 tetes larutan sodium dioksikolat 10% di atas koloni *Streptococcus*, biarkan kering. Uji positif ditandai adanya lisis dengan koloni tampak datar keadaan ini merupakan karakteristik koloni *Pneumococcus*.

### **9. Uji Bile Esculin**

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Streptococcus group D*. Sifat karakteristik dari *Streptococcus group D* yang digunakan sebagai dasar pengujian adalah mampu tumbuhnya bakteri ini dalam 4% *bile* (empedu), dan mampu menghidrolisa *esculin* menjadi *esculetin* dan *ferric citrat*, sehingga timbul warna hitam pada media. Satu atau dua koloni ditanam dalam media agar miring *bile esculin* atau agar datar *bile esculin*, inkubasi 35°C, 18-24 jam, bila negatif inkubasi dapat diteruskan hari berikutnya. Hasil positif akan tampak dari timbulnya warna pada agar miring, atau warna hitam sekitar koloni pada agar datar.

### **Arti Klinik**

Manusia adalah sumber alamiah untuk *Streptococcus haemolyticus group A*, yakni *S. pyogenes*. *S. pyogenes* merupakan penyebab faringitis, tonsilitis, sinusitis, proderma, impetigo, bakterimia, endokarditis, serta meningitis. Pada anak usia sekolah infeksi dapat berupa sakit akut dengan demam, sakit tenggorok, tonsilitis dengan eksudat dan adenitis servikal. Dari 25% pasien akan menjadi karier pembawa.

*S. galactiae*; pada mulanya dikenal sebagai patogen pada lembu, kemudian diketahui merupakan patogen manusia pada periode neonatal.

Mikrobia ini hidup pada traktus genital dan gastrointestinal manusia dewasa sehat.

Grup G Streptokoki merupakan patogen pada manusia dan hewan. Organisme ini merupakan flora normal vagina, traktus gastrointestinal, dan kulit. Infeksi serius group G dapat berupa sepsis neonatal, otitis media, pneumonia, empiema, selulitis, meningitis.

Streptococcus grup D merupakan penghuni flora normal traktus gastrointestinalis, apabila berpindah tempat akan menyebabkan timbulnya bakteremia, *choleacystis*, dan infeksi luka.

*S. pneumonia* paling sering menyebabkan otitis media dan bakterimia pada bayi dan anak-anak. Merupakan penyebab utama pneumonia bakterial komunitas dan meningitis. *S. viridans* merupakan flora normal rongga mulut.

## Tugas Praktikan

### 1. Pemeriksaan *Staphylococcus sp.*

**Bahan/Alat** : spesimen klinik  
lampu spiritus  
agar darah  
agar MSA (*Manitol Salt Agar*)  
cat Gram  
obyek *glass*  
*deck glass*  
ose lancip  
ose bulat  
contoh koloni *S. aureus*, *S. epidermidis*  
contoh tanaman pada agar darah dan MSA

#### Langkah:

1. Membuat preparat dari spesimen klinik, kemudian dicat Gram dan diamati di bawah mikroskop.
2. Mengamati contoh preparat mikroskop awetan. Bandingkan dengan preparat buatan anda.
3. Mengamati contoh hasil penanaman pada agar darah. Pilih koloni yang dicurigai sebagai *Staphylococcus sp.* . Buatlah preparat dari koloni tersebut, kemudian dicat Gram dan amati di bawah mikroskop.
4. Isolat yang dicurigai ditanam pada MSA (*Manitol Salt Agar*), 18-24 jam, 37°C, amati timbulnya warna kuning cerah disekitar media atau pada koloni. *S. aureus*\_membentuk asam manitol, berwarna kuning (MSA positif), sedangkan koloni MSA negatif membentuk koloni berwarna putih dengan sekitar tetap merah-keunguan (warna media).

## 2. Pemeriksaan *Streptococcus*

**Bahan/Alat :** spesimen klinik  
*deck glass*  
*obyek glass*  
lampu spiritus  
agar darah, cat Gram  
ose bulat  
ose lancip  
preparat awetan  
formalin  
contoh tanaman pada agar darah  
contoh koloni streptokokus alfa, beta, dan gamma.

### **Langkah:**

1. Membuat preparat dari spesimen klinik, kemudian dicat Gram dan diamati di bawah mikroskop.
2. Mengamati contoh preparat mikroskop awetan. Bandingkan dengan preparat buatan anda.
3. Mengamati contoh hasil penanaman pada agar darah. Pilih koloni yang dicurigai sebagai *Streptococcus*. Buatlah preparat dari koloni tersebut, kemudian di cat Gram dan amati di bawah mikroskop.
4. Menggambar pertumbuhan koloni *Streptococcus* alfa, beta, dan gamma. Perhatikan perbedaannya dengan seksama.