

PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PEMERIKSAAN BAKTERI ANAEROB, PRODI KG



DEPARTEMEN MIKROBIOLOGI FKIK UMY

KLASIFIKASI BAKTERI BERDASARKAN KEBUTUHAN OKSIGEN

1. BAKTERI AEROB

Bakteri butuh oksigen sebagai penerima elektron akhir, tergantung pada adanya sistim sitokrom , Contoh : *Nocardia* , *Pseudomonas*, *Bacillus*

2. BAKTERI MIKROAEROFILIK

Bakteri butuh oksigen sebagai akseptor elektron akhir dengan kadar tertentu, tidak dapat tumbuh pada permukaan media padat dalam udara,

Contoh : *Haemophilus*, *Campylobacter*, *Helicobacter*

3. BAKTERI ANAEROB FAKULTATIF

Bakteri hidup dengan dan tanpa Oksigen

Contoh : *Streptococcus sp.*, *E.coli*.

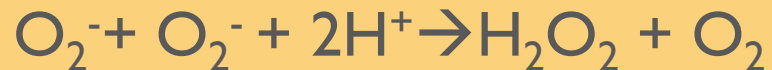
4. BAKTERI ANAEROB OBLIGAT

Bakteri tidak membutuhkan oksigen, tidak mempunyai sistim sitokrom

Contoh : *Bacteroides*, *Clostridium*.

BAKTERI AEROB DAN FAKULTATIF AEROB

- Memiliki sistem sitokrom untuk memetabolisme oksigen
- Memiliki *enzim superoksid desmutase (SOD)* mengkatalisis sebagaimana reaksi berikut



- Memiliki *enzim Katalase* mengkatalisis sebagaimana reaksi berikut :



BAKTERI ANAEROB

- Pada reaksi reduksi-oksidasi, oksigen akan tereduksi menjadi produk yang toksik (anion superoksida, hidrogen peroksida, hidroksi radikal)
- Tidak adanya **enzim superoksida desmutase (SOD)** yang dapat mengkatalisis molekul anion superoksida (O_2^-) menjadi Oksigen (O_2) dan hidrogen peroksida
- Tidak adanya **enzim katalase** yang dapat memecah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) yang tidak toksik

DISTRIBUTION OF SUPEROXIDE DISMUTASE, CATALASE AND PEROXIDASE IN PROCARYOTES WITH DIFFERENT O₂ TOLERANCES

Group	Superoxide dismutase	Catalase	Peroxidase
Obligate aerobes and most facultative anaerobes (e.g. Enterics)	+	+	-
Most aerotolerant anaerobes (e.g. Streptococci)	+	-	+
Obligate anaerobes (e.g. Clostridia, Methanogens, Bacteroides)	-	-	-

KLASIFIKASI BAKTERI ANAEROB

Table 22–1. Anaerobic Bacteria of Clinical Importance.

Genera	Anatomic Site
Bacilli (rods)	
Gram-negative	
<i>Bacteroides fragilis</i> group	Colon
<i>Prevotella melaninogenica</i>	Mouth
Fusobacterium	Mouth, colon
Gram-positive	
Actinomyces	Mouth
Lactobacillus	Vagina
Propionibacterium	Skin
Eubacterium, bifidobacterium, and arachnia	Mouth, colon
Clostridium	Colon ¹
Cocci (spheres)	
Gram-positive	
Peptostreptococcus	Colon
Gram-negative	
Veillonella	Mouth, colon

¹ Also found in soil.

BAKTERI ANAEROB DLM ARTI KLINIK

- Cenderung infeksi campuran aerob & anaerob
- Berhubungan dengan bagian mukosa → ada jaringan nekrosa
- Membentuk infeksi tertutup → abses terbatas / dlm lapisan jaringan.
- Nanah / eksudat berbau busuk
- Endokarditis steril
- Pembentukan gas
- Infeksi didukung kurangnya suplai darah (jar.nekrosa & tek. $O_2 \downarrow$) → peredaran obat terhambat

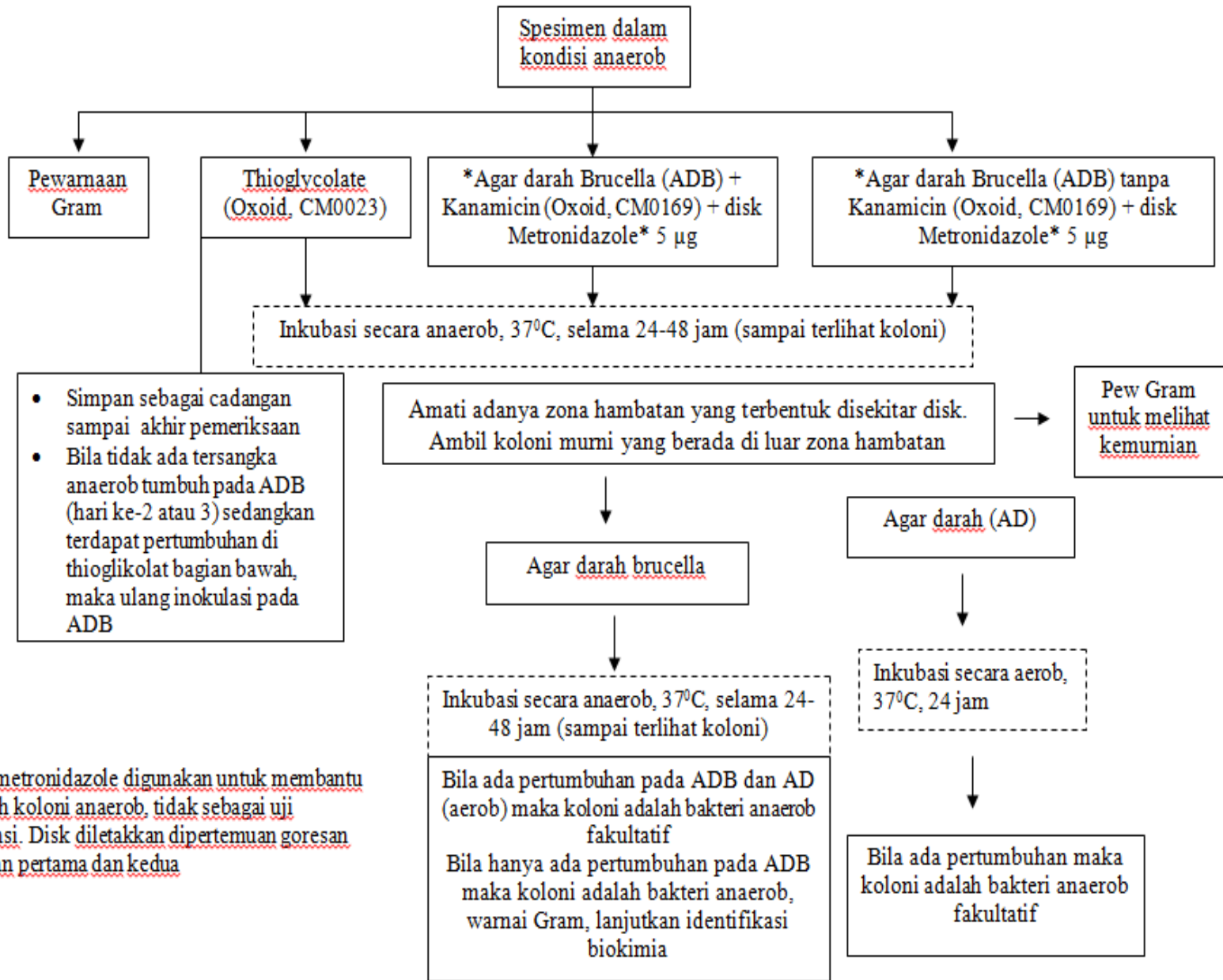
PEMERIKSAAN PENUNJANG LABORATORIUM UNTUK DIAGNOSIS INFEKSI BAKTERI ANAEROB

- **Gejala klinik** mengarah adanya infeksi anerob
- Pengambilan Spesimen klinik harus memenuhi syarat kondisi anerob
→ aspirasi anaerob dengan spuit → jarum ditutup karet steril → Media transport khusus (tidak diperkenankan mengirim spesimen dalam spuit) → segera dilakukan pemeriksaan \leq 1 jam
- Spesimen klinik yaitu : aspirat: darah, urin suprapubik, abses, dasar luka, jaringan biopsi
- Spesimen yang **tidak digunakan** untuk pemeriksaan anaerob yaitu Swab , Sputum, Urin selain aspirat suprapubik, Feses dan Cairan serebrospinal
- **Swab luka** diperkenankan jika aspirat sulit didapatkan, dengan syarat : swab dari dacron/polyester dan bebas oksigen (Swab cotton toksik terhadap bakteri *fastidious*)

PROSEDUR PEMERIKSAAN

1. Pemeriksaan langsung → pengecatan Gram
2. Kultur anaerob dengan media selektif : Media Thyoglikolat, Tarozi, Agar Darah Brucella
3. **Identifikasi bakteri anaerob** berdasarkan :
 - Morfologi Koloni
 - Sifat Hemolisis
 - Pengecatan Gram
 - Pengamatan pigmen : *Provitella sp.* dan *Porphyromonas sp.* → positif
 - Uji Biokimia
 - Floresens menggunakan lampu UV
 - Uji katalase: H_2O_2 15% (positif: timbul gelembung udara)
 - Uji indol: positif warna biru
 - Disk Antibiotika

Kultur dan Identifikasi Bakteri Anaerob



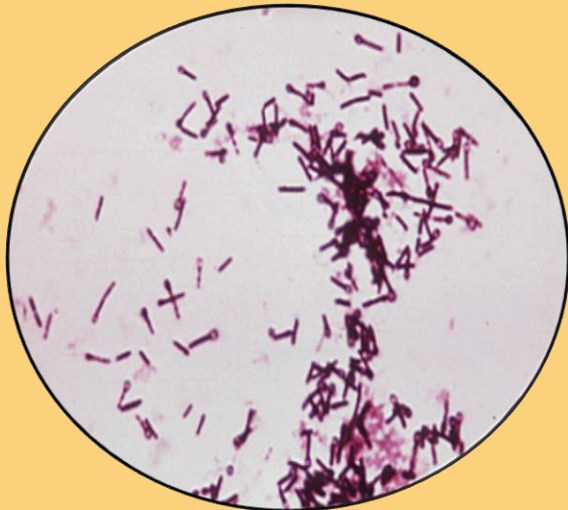
*Disk metronidazole digunakan untuk membantu memilih koloni anaerob, tidak sebagai uji resistensi. Disk diletakkan dipertemuan goresan kwadran pertama dan kedua

DISK METRONIDAZOL 5MG



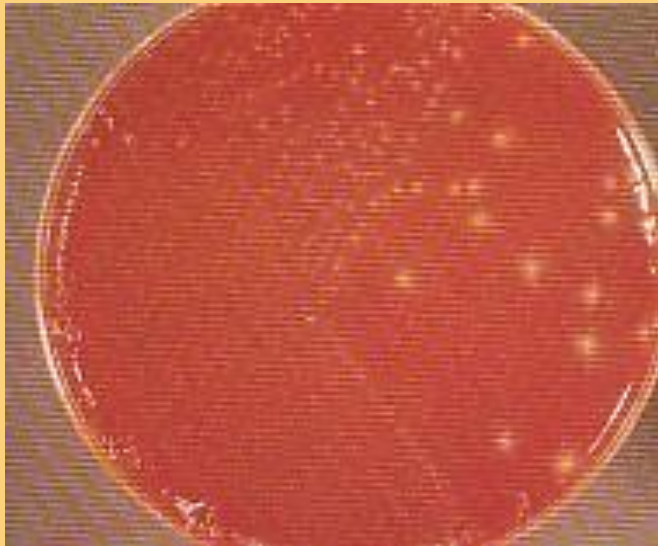
HASIL PENGECATAN GRAM

GRAM POSITIF		GRAM NEGATIF	
Batang	Kokus	Batang	Kokus
<i>Lactobacillus</i>	<i>Peptostreptokokus</i>	<i>Bacteroides fragilis</i> <i>Fusobacterium sp</i>	<i>Veilonella</i>
<i>Eubacterium</i>		<i>Prevotella</i> , <i>phorphyrimonas</i>	
<i>Clostridium</i>			

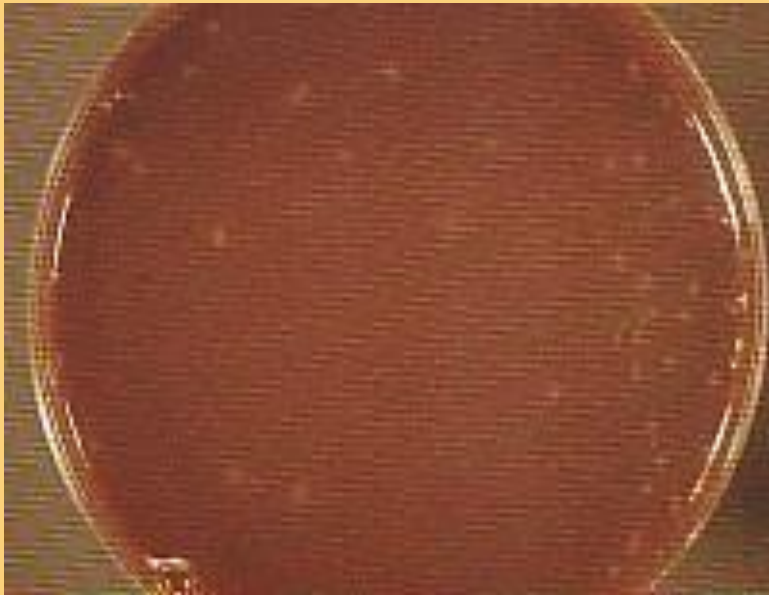


KULTUR BAKTERI ANAEROB

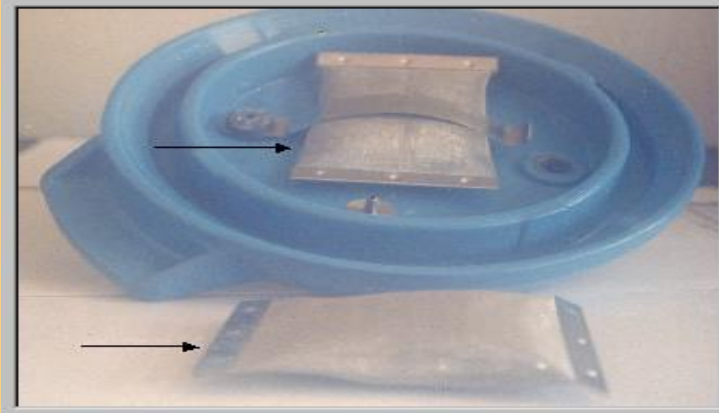
- Cara Inkubasi:
 1. Sist. Sungkup anaerob + gas pak
 2. Sist. Sungkup evacuation / replacement
 3. Anaerob glove box.



KULTUR BAKTERI ANAEROB



Anaerob Gas kit



Anaerob Katalis

GAS PACK ANAEROBIC JAR



3-31 Prereduced anaerobic plates can be held in an anaerobic holding jar for a short time before and after inoculation.



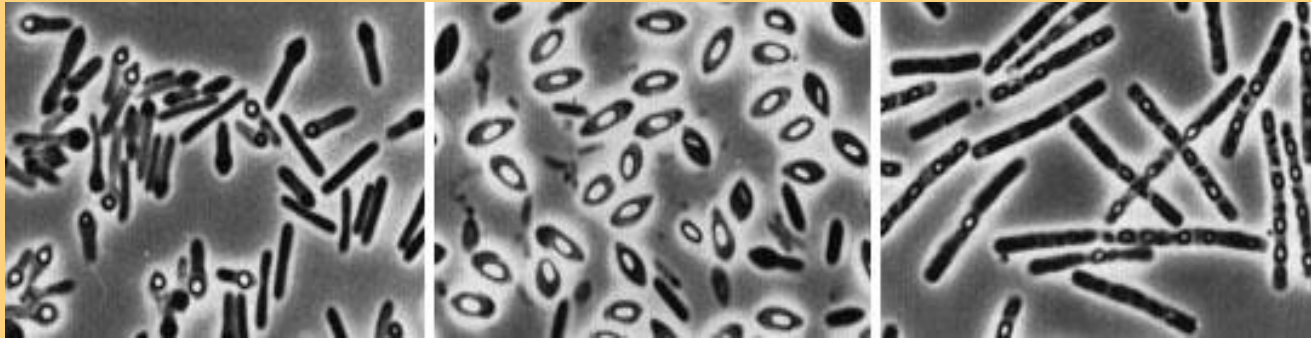
the source of the gas pack is the source of the gas pack.



1. *CLOSTRIDIUM SP*

Morfologi:

- **Batang, gram +**, membentuk spora, flagel peritrikih, anaerob.
- Kultur anaerob: media thioglikolat, pengambilan BP dengan aspirasi anaerob, inkubasi dengan anaerob big jar/ sungkup anaerob.
- Spesies yang penting: *C.tetani*, *C.botulinum*, *C.perfringens*, *C.difficile*.



2. *FUSOBACTERIUM SP*

- Bakteri **batang gram negatif pleomorfik**
- Semua spesies memproduksi asam butirat dan mengubah treonin menjadi asam propionat.
- Group Fusobacterium termasuk spesies yang sering diisolasi dari **infeksi campuran** disebabkan oleh flora normal mukosa.
- *Fusobacterium* species sebagai satu-satunya bakteri pada infeksi seperti **osteomyelitis**.

KOLONI DAN MIKROSKOPIS *FUSOBACTERIUM SP.*

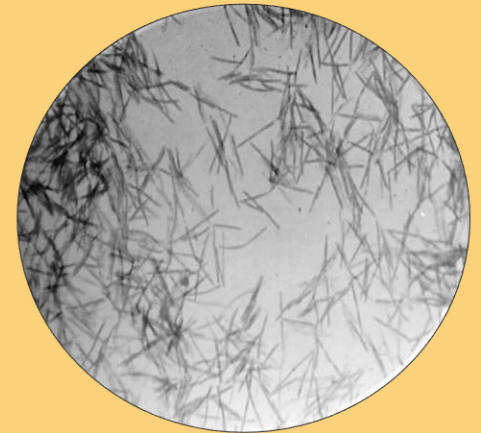
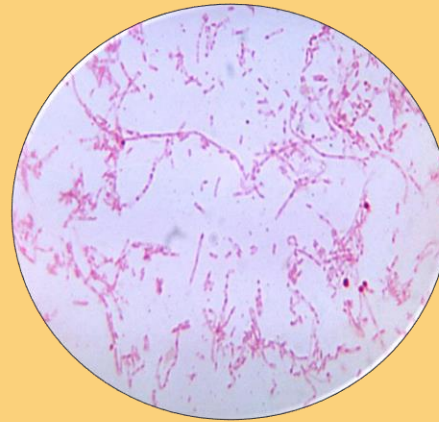


Figure 20-6 Microscopic morphology of *F. nucleatum* from broth culture. Note the regular staining and thin, delicate bacilli with tapered ends. Organisms are sometimes found end to end.

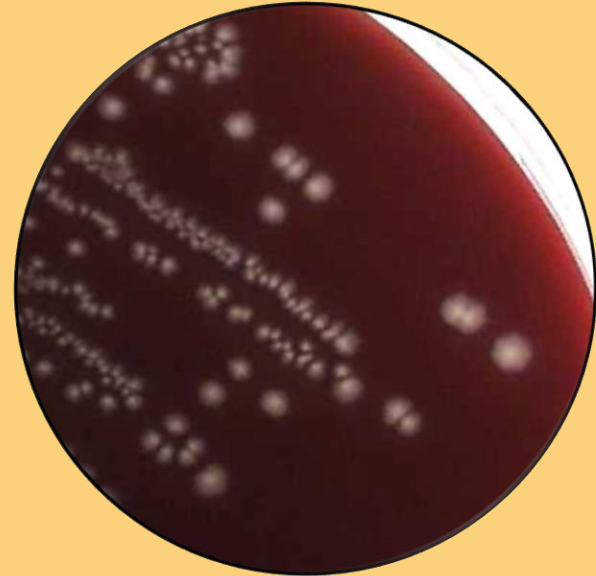
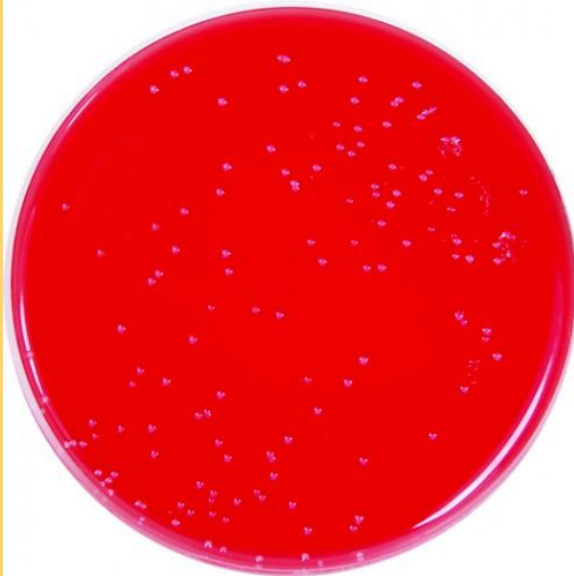
3. *BACTEROIDES SP*

- *Bacteroides* species merupakan anaerob yang penting penyebab infeksi pada manusia
- Bakteri **batang gram negatif** dan tampak sebagai batang tipis, kecil atau **kokobasil**
- Beberapa spesies dalam genus *Bacteroides* diklasifikasi kembali ke dalam genus *Prevotella* atau genus *Porphyromonas*.
- *Bacteroides* species adalah **flora normal pada saluran pencernaan dan tempat lainnya**
- Feses normal mengandung 10^{11} *B fragilis* per gram (dibandingkan dengan $10^8/g$ untuk facultative anaerobes).

3. *BACTEROIDES SP*

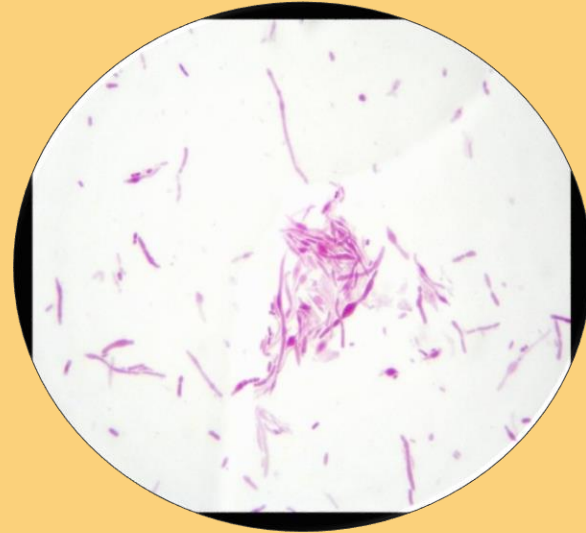
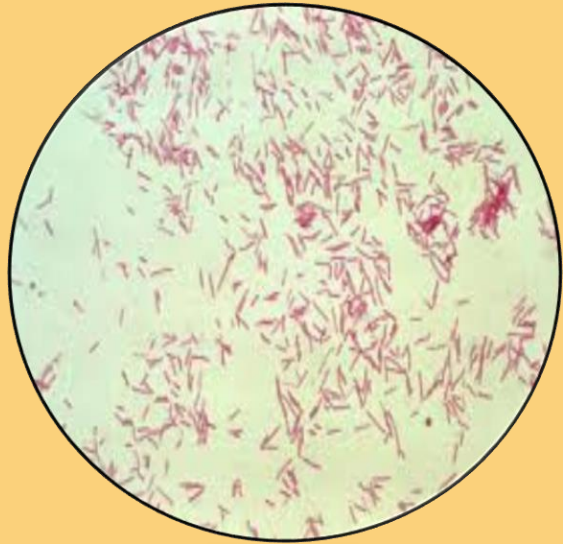
- Infeksi berkaitan **kontaminasi isi kolon** , terjadi supurasi (peritonitis pasca trauma gastrointestinal) oleh anggota *B fragilis* group (*B fragilis*, *B ovatus*, *B distasonis*, *B vulgatus*, *B thetaiotaomicron*. Dll)
- Klasifikasi berdasarkan **gambaran koloni dan biokimia** dan karakteristik **pola asam lemak rantai pendek** pada gas-liquid chromatography.
- Pada infeksi intra-abdominal abscess, *Bacteroides* species berhubungan dengan bakteri anaerob lainnya :
 - a. anaerobic cocci (peptostreptococcus),
 - b. anaerobic gram-positive rods (clostridium)
 - c. eubacterium
 - d. gram-positive dan gram-negative facultative anaerobes (bagian flora normal)

KOLONI *BACTEROIDES SP*



Koloni: Bulat
Warna : putih
Permukaan: rata

MIKROSKOPIS *BACTEROIDES SP*



Gram stain

Gram-negative,
pleomorphic rods with
vacuoles

IDENTIFIKASI DENGAN DISK ANTIBIOTIKA

Bakteri Anaerob	C-10	E-60	K-1000	P-2	R-15	V-5
Gram (+)	R	-	-	S	-	S
Gram (-)	S	-	-	S	-	R
<i>B.fragilis</i>	R	S	R	R	S	R
<i>B. melaninogenicus oralis</i>	V	S	R	S	S	V
<i>B.corcrodens</i>	S	S	S	S	S	R
<i>F.mortiferum-Varum</i>	S	R	S	S'	R	R
<i>Fusobacterium Spp</i>	S	S'	S	S	S	R
Bacillus Gram (-) non sporeforming	R	-	-	S'	-	S'
<i>Clostridia sp.</i>	R	-	-	S'	-	S'

KETERANGAN :

- R : resistensi zona kurang 10 mm
- S : sensitif
- **V** : **variable**
- S' : biasanya sensitif, kadang-kadang resisten
- R' : biasanya resisten, kadang-kadang sensitif
- C-10 Colistin 10 gr
- E-60 Erithromycin 60 ug
- K-1000 Kanamycin 1000 ug
- P-2 Penicillin 1 U
- R-15 Rifampicin 15 ug
- V-5 Vancomycin 5 ug

TUGAS MAHASISWA

1. Menggambar koloni bakteri pada media pertumbuhan Thioglycolat (aerob, anaerob, fakultatif anaerob)
2. Menggambar uji sensitivitas metronidazole
3. Mengamati, menggambar dan menginterpretasikan hasil contoh hasil identifikasi kuman *Bacteroides* dengan disk diagnostik.
4. Menggambar mikroskopik bakteri *Clostridium*

