

Praktikum Mikrobiologi
Prodi Kg

Bakteri Kokus Gram Positif
Staphylococcus dan Streptococcus

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

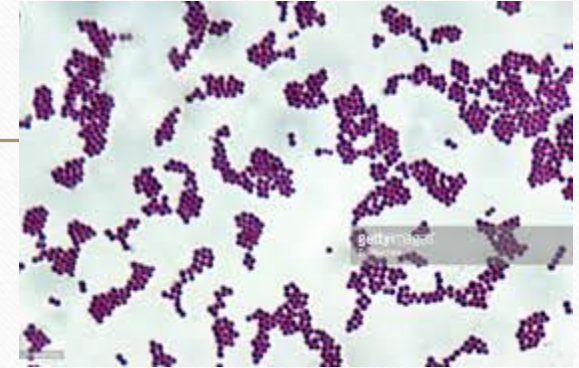
TIK :

- mengidentifikasi bakteri Kokus Gram positif
- menyebutkan dan menjelaskan beberapa spesies bakteri Kokus Gram positif
- menjelaskan penyakit-penyakit yang disebabkan bakteri Kokus Gram positif dan patogenesisnya
- menjelaskan cara menegakkan diagnosis dengan pemeriksaan mikrobiologi
- (gejala klinis, pengambilan spesimen, pemeriksaan mikrobiologi) pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri kokkus Gram positif
- menginterpretasikan hasil pemeriksaan mikrobiologi.

Staphylococcus

- Sel berbentuk **bulat, Gram positif**, tersusun dalam kelompok tidak teratur.
- Mudah tumbuh pada berbagai media, meragi beberapa karbohidrat, membentuk pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua kadang-kadang ungu.
- **Flora normal kulit** dan selaput lendir manusia, tapi ada yang dapat menyebabkan pernanahan abses bahkan septikemia yang fatal.
- Jenis pathogen: **menghemolisa darah, mengkoagulasi plasma** dan menghasilkan enzim dan toksin.
- Cepat **resisten terhadap banyak anti mikrobia** dan menyebabkan kesulitan dalam pengobatan.

Morfologi



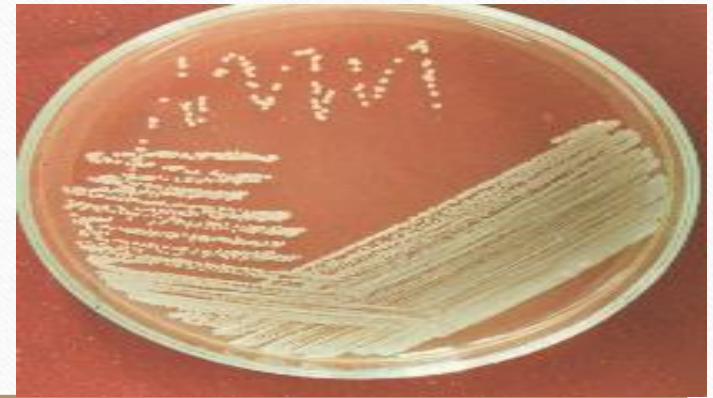
- Morfologi Staphylococcus yang khas :

Bentuk : bulat, diameter 1mm

Sifat pengecatan : Gram positif, makin tua makin kearah Gram negatif

Susunan : menggerombol seperti buah anggur. tunggal, berpasangan, (3 – 4 sel) atau berempat. Susunan yang tidak khas bila preparat dibuat dari media cair.

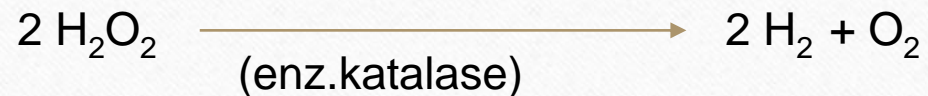
Penanaman



- Staphylococcus mudah tumbuh pada perbenihan aerob atau mikroaerofilik.
- Staphylococcus tumbuh paling cepat pada 37°C pembentukan pigmen optimal pada suhu kamar (20°C-25°C).
- Koloni pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus, menonjol, dan mengkilat, berbentuk berbagai pigmen. Warna koloni tidak selalu dapat untuk menentukan spesies Staphylococcus.
- 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 hemolise dalam berbagai tingkatan. →

Sifat-sifat pertumbuhan

- Staphylococcus menghasilkan enzim katalase, sifat ini dapat membedakannya dengan Streptococcus.
- Meragikan banyak karbohidrat secara lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak **menghasilkan gas**.
- Staphylococcus 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.



Struktur antigen

- Staphylococcus 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 juga merupakan antigen.

Produk-produk ekstraseluler

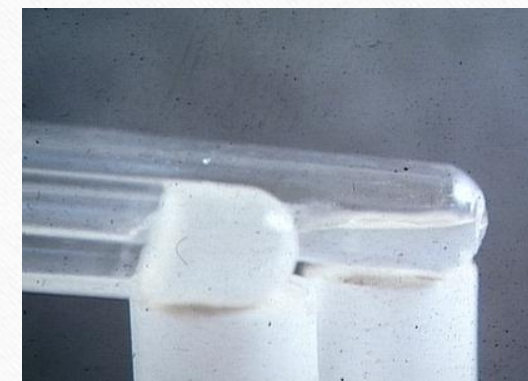
- **Katalase** : merubah hidrogen peroksidase menjadi air dan oksigen.
- **Koagulase** : menjendalkan plasma oxalat atau plasma sitrat dengan bantuan coagulase eracting factor (CRF), suatu derivat dari molekul trombin. Jendalan terjadi akibat adanya aktivasi CRF dalam plasma, membentuk kompleks CRF koagulase,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

Diagnosa Laboratorik

- **Bahan pemeriksaan** : usapan permukaan lesi, nanah, darah, aspirasi trakhea, cairan spinal atau tempat-tempat lain yang dicurigai.
- **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 yang khas, bakteri **Bulat/Kokus , Gram positif , menggerombol** seperti buah anggur, berpasangan atau membentuk rantai pendek.

Diagnosa Laboratorik

- **Kultur** : Bahan ditanam pada lempeng agar darah menghasilkan koloni khas pada 18 jam pada 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%.
- **Tes katalase** : teteskan hidrogen peroksida pada gelas alas ditambah pertumbuhan kuman. Tes dinyatakan positif bila terjadi gelembung udara (pelepasan oksigen).
- **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.



Diagnosa Laboratorik

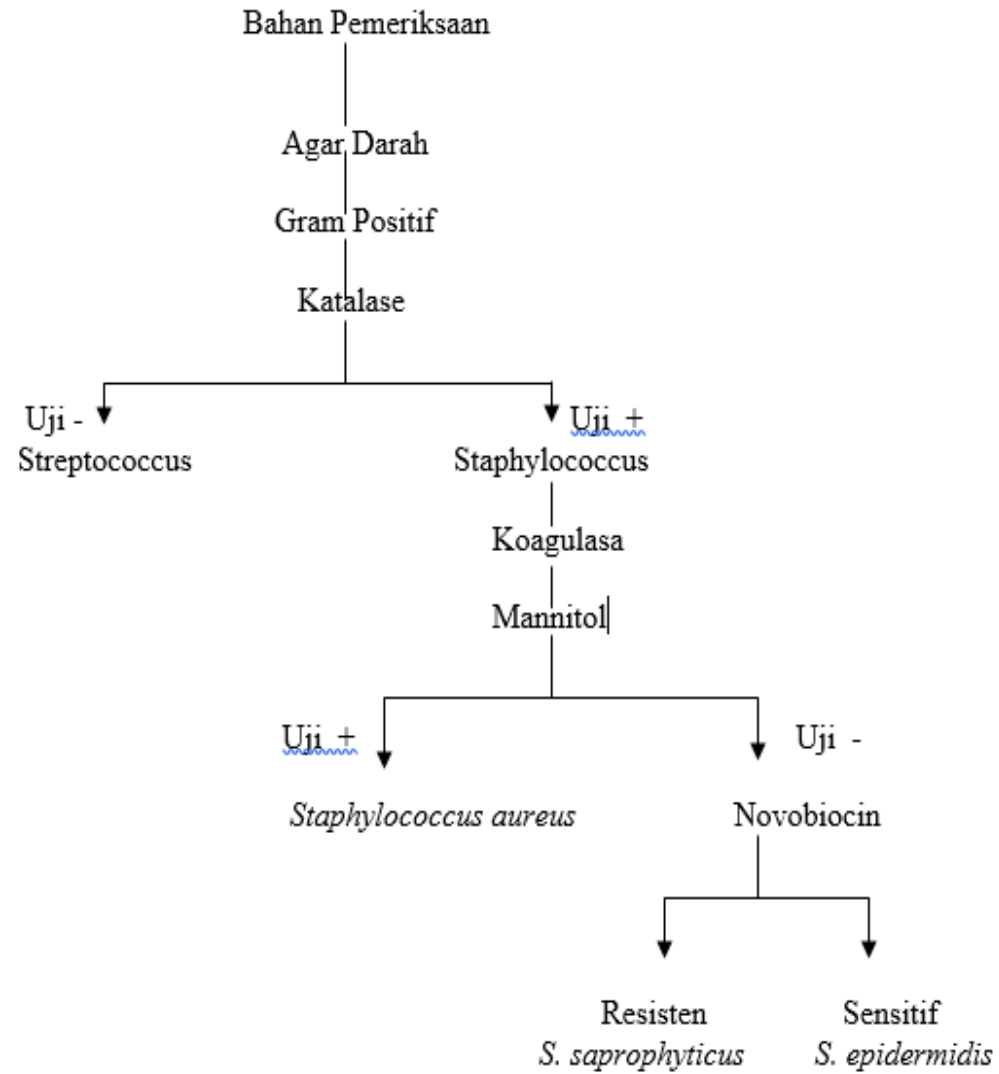
- **Tes kepekaan terhadap novobiocin** : Pemeriksaan ini bertujuan untuk *S. saprophyticus* dengan *S. epidermidis*. *S. saprophyticus* resisten terhadap novobiocin sedang *S. epidermidis* sensitif.
- **Tes mannitol** : Pemeriksaan ini dapat untuk mengganti tes koagulase, *S. aureus* dapat mengadakan fermentasi mannitol dalam keadaan anaerob.
- Cara pemeriksaan : 1 koloni kuman diinokulasikan pada agar mannitol dengan menusukkan ke bawah tabung, diinkubasikan 37°C selama 24-48 jam. Tes dinyatakan **positif** bila terjadi **perubahan warna menjadi kuning**.



Arti Klinik

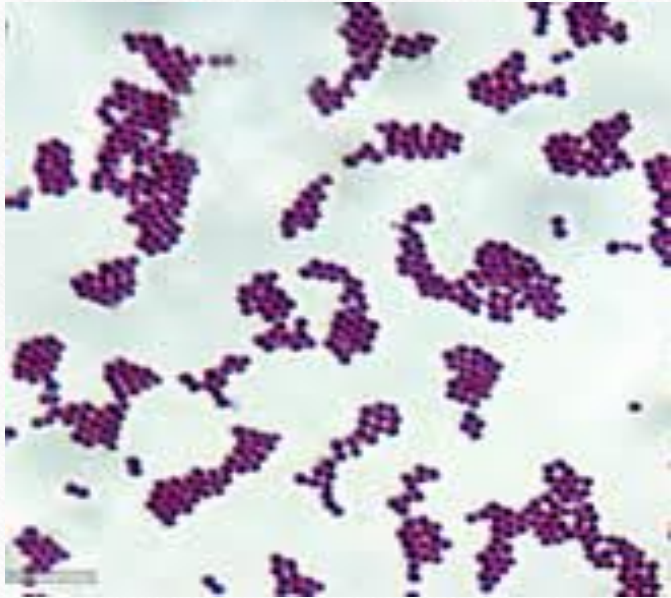
- Infeksi kulit karena *S.aureus* sering ditemukan, meliputi cellulitis, pustula, bisul, impetigo, dan luka pasca bedah.
- Bakteri ini sering menyebabkan pula keracunan makan, karena enterotoksin yang diproduksi selama pertumbuhannya. Sering pula terlihat proses endokarditis, bakterimia, meningitis,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

Skema Pemeriksaan Laboratoris Staphylococcus



Tugas Praktikan

- Mengamati dan menggambar mikroskopik dan makroskopik Staphylococcus
- Menggambar uji katalase positif
- Menggambar uji MSA positif dan negatif



Streptococcus

- Streptococcus: bentuk sel bulat, Gram positif, tersusun khas **berderet seperti rantai**.
- Beberapa sbg flora normal manusia; lainnya dihubungkan dengan penyakit-penyakit penting pada manusia. Terjadinya penyakit-penyakit tersebut dapat berupa infeksi atau hipersensitivitas.
- menghasilkan **zat ekstraseluler dan enzim-enzim**, Kemampuan menghemolisa sel-sel darah merah sbg dasar untuk klasifikasi.

Morfologi

- 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 ini menghalangi fagositosis.
- Dinding sel streptococcus mengandung protein (antigen M, T, R), karbohidrat (spesifik group), dan peptidoglikan.
- **Pili** seperti rambut menonjol melalui kapsul streptococcus group A. Pili terdiri dari protein M dan ditutupi asam lipoteikoat. Asam lipoteikoat membantu perlekatan streptococcus pada sel epitel.

Penanaman

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

Sifat-sifat pertumbuhan

- Pertumbuhan 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 CO₂ 10%, pertumbuhan dan hemolisa terjadi lebih sempurna.

Struktur Antigen

- Streptokokus hemolitik dibagi dalam group-group serologik (A-U)
- Beberapa zat antigen yang ditemukan :
 - a. **Karbohidrat C** : terdapat dalam dinding sel dari banyak streptococcus dan merupakan dasar pembagian pada group serologik (Lancefield group A-U).
 - b. **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.

Produk-Produk Ekstraseluler

- **Streptokinase (fibrinolisin)** dihasilkan oleh banyak strain streptococcus beta-hemolitik. Zat ini mengubah plasminogen serum manusia menjadi plasmin.
- **Streptodornase** (deoksiribonuklease dari streptococcus) : adalah enzim yang mempunyai aktifitas depolimerase AND.
- **Hialuronidase** enzim yang memecah asam hialuronat (spreading factor).
- **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.
- **Hemolisin** : Perusakan total eritrosit dengan mengeluarkan hemoglobin dinamakan beta-hemolisis. Lisis tidak sempurna eritrosit dengan pembentukan pigmen hijau dinamakan alfa hemolisis.

Klasifikasi Streptococcus

Klasifikasi streptococcus secara praktis dalam kategori-kategori utama dapat didasarkan pada :

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

Klasifikasi Streptococcus

- **1. Streptococcus Beta-hemolitik**
- Kuman ini menghasilkan hemolisin yang dapat dikenal dengan mudah pada agar darah dan juga menghasilkan karbohidrat C.

- **Group A** : *Streptococcus pyogenes*, Kuman ini biasanya sensitif terhadap basitrasin. Pada agar darah kambing koloninya khas dengan adanya daerah hemolisa beta yang lebar.
- **Group B** : *Streptococcus agalactica*, flora normal dari saluran kelamin wanita. Penyebab 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.
- **Group D** : Termasuk enterococcus (misalnya *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*) dan non-enterokokus (misalnya *Streptococcus bovis*, *Streptococcus equinus*). Pada agar darah kambing menunjukkan hemolisa alfa atau tidak menghemolisa eritrosit. Hemolisa beta dapat terbentuk pada agar darah kuda atau kelinci. Enterococcus tumbuh pada NaCl 6,5% atau empedu 40%, dihambat oleh penisilin tapi tidak dibunuh. Sebagai flora normal di usus. Ditemukan pada infeksi saluran air kemih, infeksi kardiovaskuler dan meningitis. Kuman ini menyebabkan infeksi saluran air kemih atau endokarditis.

Klasifikasi Streptococcus

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.
- **2. Pemeriksaan Mikroskopik/langsung**
Pengecatan Gram

Penanaman

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

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.

Reaksi Quellung

(reaksi pembengkakan 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 methylene 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*

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

Uji Optochin

- Kepekaan *S.pneumoniae* terhadap optochin dapat digunakan untuk membedakan organisme ini dengan *S.viridans*. Pneumococcus timbul zone hambatan disekitar cakram optochin, diameter 16 mm.
-

Uji Bile Solubility

- Untuk membedakan pneumococcus dengan *S.viridans*. Uji ini berdasar pada sifat pneumococcus yang lisis dalam larutan empedu.

Uji Bile Esculin

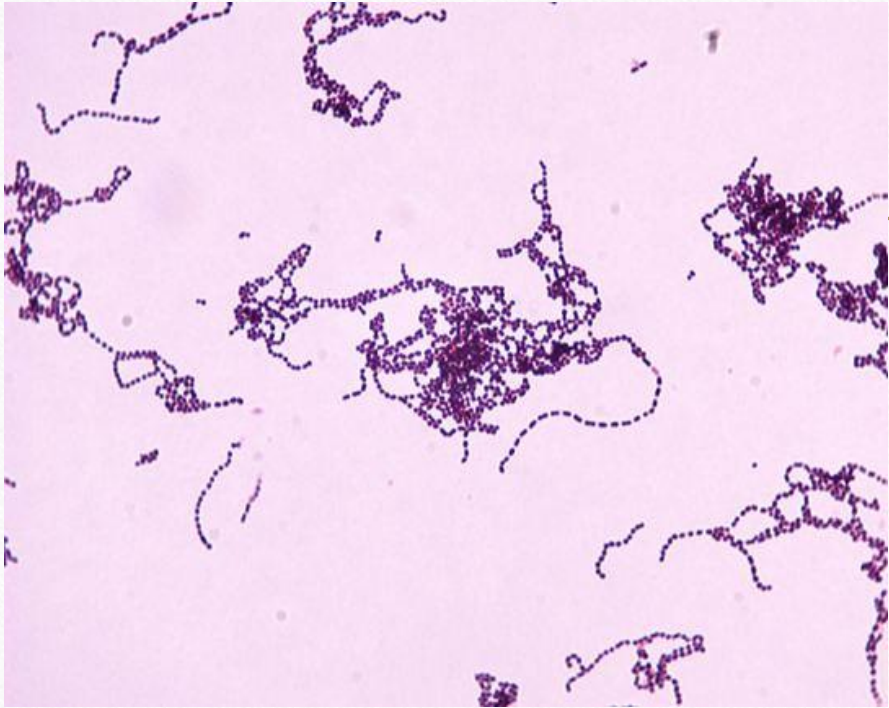
- Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengidentifikasi Streptococcus group D. Sifat karakteristik dari Streptococcus group D yang digunakan sebagai dasar pengujian adalah mampu tumbuhnya bakteri ini dalam 4% bile (empedu), dan mampu menghidrolisa esculin menjadi esculetin dan ferri citrat, sehingga timbul warna hitam pada media.

Arti Klinik

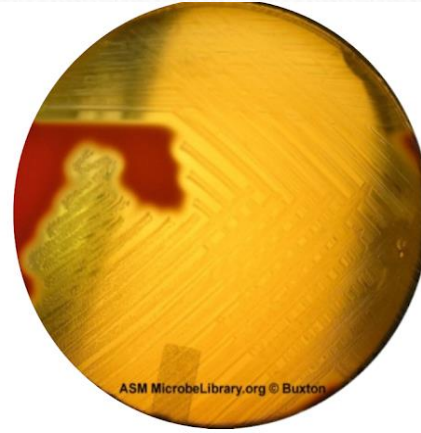
- *S. pyogenes* menyebabkan faringitis, tonsilitis, sinusitis, proderma, impetigo, bakterimia, endokarditis, serta meningitis. Pada anak usia sekolah infeksi dapat berupa sakit akut dengan demam, sakit tenggorok, tonsilitis dengan eksudat dan adenitis servikal.
- *S. galactiae*; patogen manusia pada 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.
- Streptococcus grup D merupakan penghuni flora normal traktus gastrointestinalis, apabila berpindah tempat akan menyebabkan timbulnya bakteremia, cholecystitis, dan infeksi luka.
- *S. pneumoniae* paling sering menyebabkan otitis media dan bakterimia pada bayi dan anak-anak. Merupakan penyebab utama pneumonia bakteri komunitas dan meningitis.
- *S. viridans* merupakan flora normal pada rongga mulut.

Tugas Praktikan

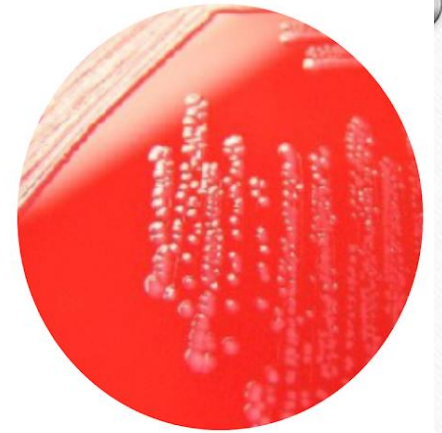
- Mengamati dan menggambar contoh preparat mikroskop Streptococcus
- Menggambar pertumbuhan koloni Streptococcus alfa, beta, dan gamma.
- Menggambar contoh uji sensitivitas optochin untuk Streptococcus pneumonia



Alpha-hemolytic



Beta-hemolytic



Gamma-hemolytic

