



www.esaunggul.ac.id

Isolasi, Identifikasi dan Taksonomi Bakteri
Pertemuan 4

Inherni Marti Abna, S.Si, M.Si
Prodi Kesehatan Masyarakat
Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan

KEMAMPUAN AKHIR YANG DIHARAPKAN

- Mahasiswa dapat memahami cara-cara dalam melakukan isolasi dan identifikasi bakteri dan mikroorganisme lainnya serta mampu membaca urutan taksonomi bakteri.

ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN TAKSONOMI BAKTERI

Oleh: Inherni Marti Abna, S.Si,M.Si

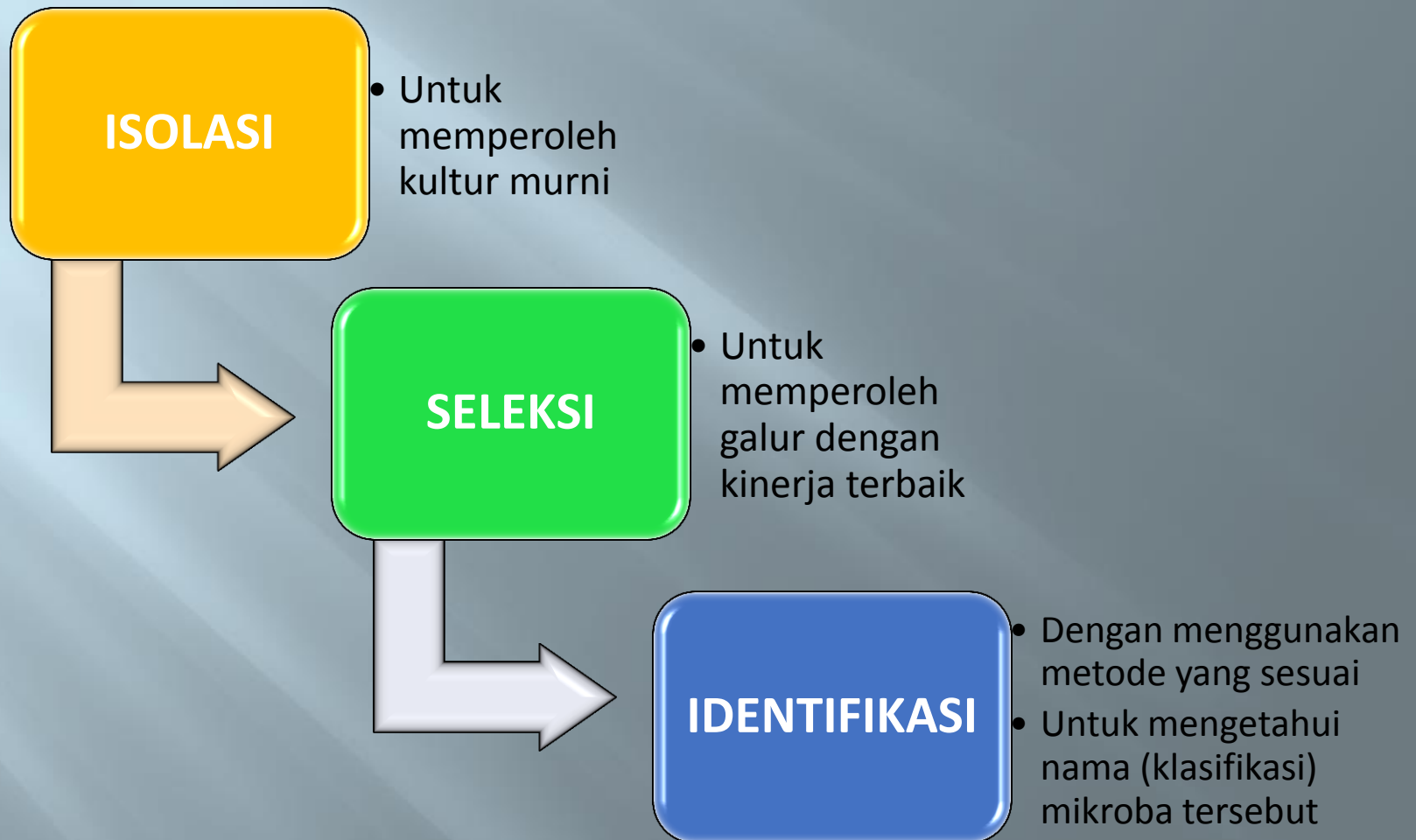
Definisi dan Istilah

- ▣ Taksonomi ialah ilmu mengenai klasifikasi atau penataan sistematis organisme ke dalam kelompok atau kategori yang disebut taksa (tunggal: takson)
- ▣ Penyusunan taksonomik mikroorganisme harus melalui tahapan isolasi dan identifikasi serta diberi nama.
- ▣ Identifikasi ialah membandingkan ciri-ciri mikroorganisme yang ada pada satuan yang belum diketahui dengan satuan-satuan yang sudah dikenal. Identifikasi mikroorganisme yang baru diisolasi memerlukan pencirian, deskripsi, dan perbandingan yang cukup dengan deskripsi yang telah dipublikasikan untuk mikroorganisme lain yang serupa

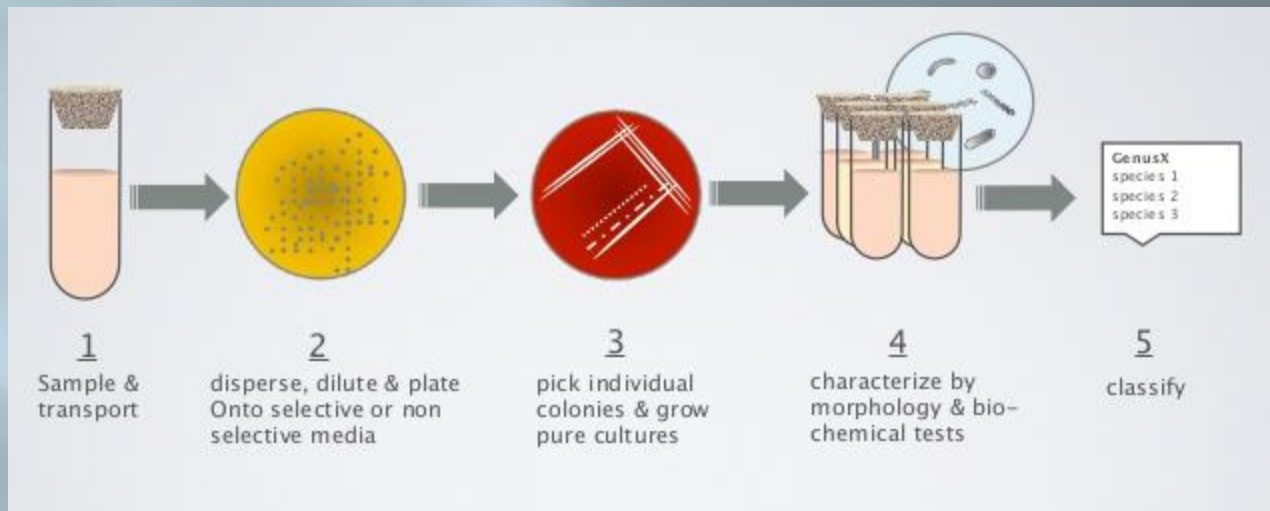
IDENTIFIKASI MIKROBA

- Sifat dari suatu mikroba dapat diketahui dari identifikasi mikroba tersebut. Identifikasi meliputi bentuk, pinggiran koloni (mikroskopis), licin/kasar (makroskopis), warna, dan jaraknya dari permukaan, contoh: *Streptococcus lactis* di dalam medium tampak membulat dan menonjol ke atas. Coliform tampak datar di medium.

TAHAPAN IDENTIFIKASI MIKROBA



TAHAPAN IDENTIFIKASI MIKROBA



ISOLASI

- Isolasi kultur : kegiatan pemisahan suatu kultur mikroba dari campuran biakan mikroba di alam menjadi sel individu terpisah. Kultur terdiri atas:
 - Kultur Murni (pure culture)
 - Kultur campuran (mixed culture)
 - Kultur di simpan dalam ruang dingin (lemari es) dan setiap 2-3 bulan diper muda/diperbaharui pada suhu kamar .
- Sebelum mengisolasi, harus diketahui :
 - mikroba apa yang akan diisolasi
 - habitat

untuk menentukan sampel apa yang akan diambil dari alam , lokasi dan media apa yang akan digunakan

MEDIA KULTUR

- ▣ Medium pertumbuhan mikroba terdiri atas:
 - Medium Cair (Broth) berisi kaldu bubuk, pepton, air suling, dan garam mineral
 - Medium Padat (Agar) berisi medium dari kaldu yang dicampur dengan sedikit agar-agar setelah disterilisasi dan kemudian dibiarkan mendingin
 - Medium yang diperkaya, khusus untuk jenis bakteri patogen yang memerlukan zat makanan tambahan berupa putih telur, susu, serum atau darah yang tak mengandung fibrinogen lagi.

Media Kultur

- Banyak media kultur juga mengandung isian yang mampu untuk mengidentifikasi **aktivitas biokimia khusus**.
- Media kultur MacConkeys' mengandung (garam empedu) lactose, dan merah neutral, sehingga koloni lactose-fermenting bakteri menjadi merah akibat produksi asam.

Kultur Murni

- Populasi mikroba di alam sekitar kita besar lagi kompleks
- Diperlukan suatu metoda untuk memisahkan populasi campuran yang kompleks ini atau disebut biakan campuran menjadi spesies yang berbeda-beda sebagai biakan (kultur) murni.
- Kultur murni terdiri dari suatu populasi sel yang semuanya berasal dari satu sel induk

TEKNIK ISOLASI KULTUR MURNI

1. Penggoresan (*Streak-plate*) & Penyebaran (*Spread-plate*)
2. Penuangan (*Pour-plate*)
3. Kultur yang Diperkaya (*Enrichment Culture*)
4. Pengenceran Berseri (*Serial-dilution*)
5. Isolasi Sel Tunggal

PEMBUKTIAN KEMURNIAN KULTUR

Setelah diasumsikan berhasil mengisolasi kultur murni maka perlu dilakukan pengujian dengan kriteria sebagai berikut :

1. Mikroba tampak mirip secara mikroskopis dan menunjukkan hasil pewarnaan yang sama
2. Pada saat ditanam pada agar cawan, semua koloni menunjukkan kesamaan
3. Hasil penggoresan dll seragam
4. Beberapa koloni isolat mempunyai penampakan/karakteristik identik, contoh memfermentasi gula yang sama dll

SELEKSI

Tujuannya untuk mendapatkan galur dengan kinerja terbaik yang tidak menghasilkan produk sampingan yang tidak kita kehendaki.

seperti peningkatan kemampuan penggunaan sumber C dan N yang murah yang dapat menurunkan biaya produksi dan perubahan morfologi sel menjadi bentuk yang lebih mudah dipisahkan dari produk

IDENTIFIKASI

Metode untuk identifikasi mikroba adalah dengan menggunakan ciri/karakteristik :

1. Morfologis

Pengamatan ukuran, bentuk dan susunan sel, adanya flagela, kapsul atau spora dengan bantuan mikroskop, baik dengan pewarnaan maupun tidak

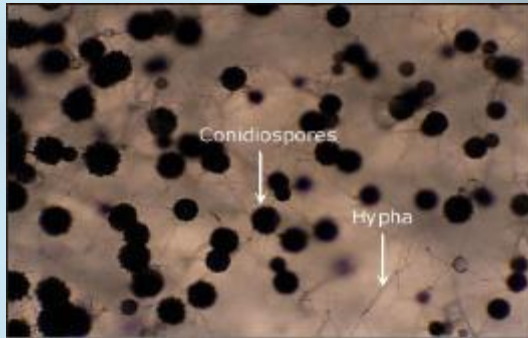
2. Nutrisional

Penentuan senyawa kimia dan kondisi fisik khusus (suhu, cahaya, gas) yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba

3. Kultural

Penentuan tampilan pertumbuhan pada berbagai macam media, baik cair maupun padat (bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni, warna, dll)

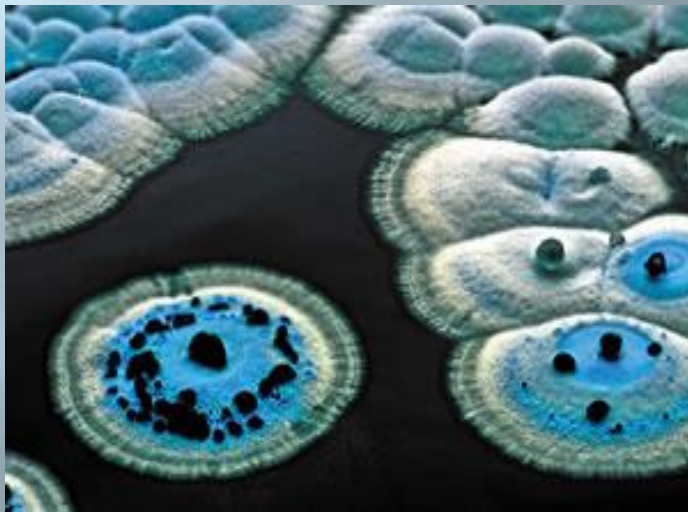
Karakteristik Morfologis



Aspergillus



E. coli

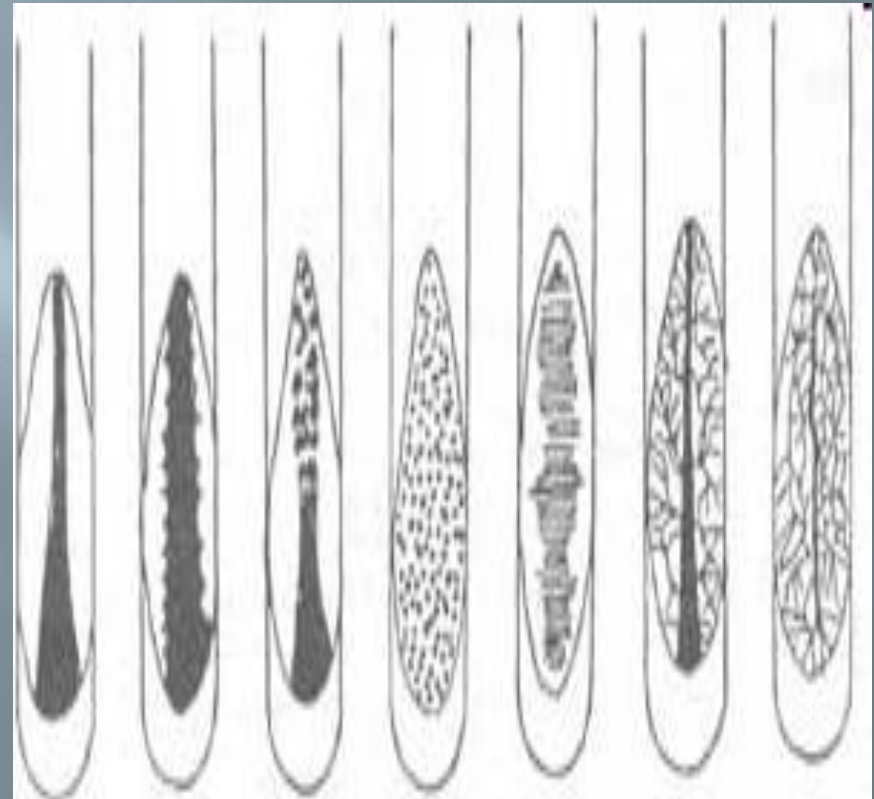
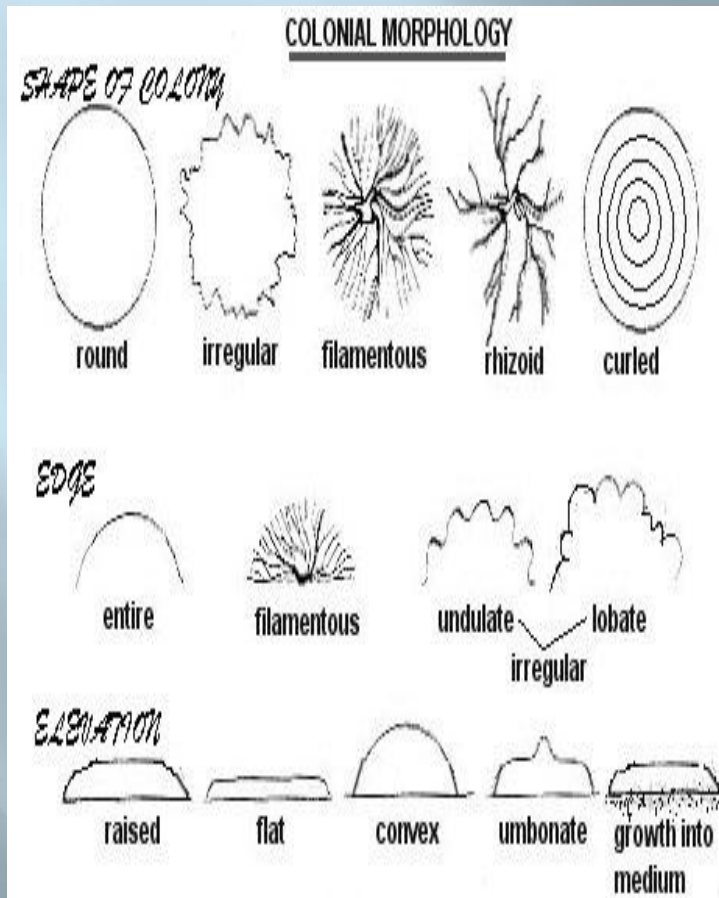


Streptomyces



Penicillium

Karakteristik Kultural



Kultur pada agar miring

4. Metabolik

Identifikasi & pengukuran perubahan kimiawi yang dilakukan mikroba, sebagai contoh kemampuan mikroba untuk mengubah karbohidrat menjadi asam organik; gula menjadi asam dan gas, dll)

Contoh : *E. coli* dapat memfermentasi laktosa, sedangkan

Salmonella typhi tidak dapat memfermentasi laktosa

5. Susunan Kimiawi

Penentuan susunan kimiawi berbagai komponen sel (dinding sel, nukleus, membran, dll)

6. Susunan Antigen (Serologi)

Penelaahan sifat antigen – antibodi yang khas

* Antigen : substansi (sel mikroba) yang menstimulasi produksi antibodi saat diinjeksikan ke hewan

7. Patogenik

Penentuan potensi suatu mikroba untuk menimbulkan penyakit

8. Genetik

Kajian berdasarkan untaian DNA mikroba menggunakan DNA Probe

Metode Pewarnaan

- Pada metode ini digunakan:
 - zat methylene violet, atau
 - gentian violet, yang diikuti
 - iodine sebagai mordant,

→ yang tetap memberi warna violet atau biru setelah dideskolorisasi dengan ethyl alcohol

disebut **Gram-positif**.

- Yang lain disebut gram negatif.
Yakni yang melepaskan warna violet sehingga tercat , **merah** setelah diberi counterstain
 - merah netral,
 - carbol fuchsin encer atau
 - safranin.
- Usia kultur tua atau masih muda bisa saja memberi hasil yang meragukan.

Sistem Klasifikasi

- **Klasifikasi Sistem Linear terinci dalam:**
 - **Filum**
 - **Kelas**
 - **Orde**
 - **Family**
 - **Genera**
 - **Spesies**

Cara Penulisan Nama Sistem LINNAEAN

- Huruf sebutan pertama (genus), ditulis dengan **huruf kapital** dan nama kedua (species), tidak usah dengan huruf kapital.

Kedua suku kata diberi garis bawah atau dimiringkan.

Contoh: ***Streptococcus pneumonia***

Salmonella typhosa

Staphylococcus aureus

Penulisan Penamaan

Dalam materi pembelajaran ini:

Penamaan mengikuti aturan umum, dengan menggunakan **singkatan penulisan kata** untuk sebutan nama generik:

B untuk Bacillus,

Br untuk Brucella,

S untuk Salmonella,

Staph. untuk Staphylococcus,

Str. untuk Streptococcus,

A. Klasifikasi Berdasarkan Reaksi terhadap Pewarnaan:

(1) Gram Positif

(2) Gram Negatif

(3) Metoda Ziehl-Neelson (Khusus untuk *Mycobacterium tuberculosis*)

Modifikasi Ziehl-Neelson dengan dekolorisasi yang kurang kasar digunakan untuk mengecat spora bakteri, dengan metode Albert's atau Neisser's untuk mendemonstrasikan karakteristik granular *Corynebacterium diphtheria*

1. **Gram positif (+)**, ada asam teikoat, 50-90% peptidoglycan, lebih resisten terhadap penyakit, kristal violet menghambat sehingga menghasilkan warna **biru**,
2. **Gram negatif (-)**, tidak ada asam teikoat 5-10% peptidoglycan, kurang resisten terhadap penyakit, kristal violet tidak menghambat sehingga menghasilkan warna **merah**.

B. Klasifikasi berdasarkan kebutuhan oksigen:

1. Aerobes:

(1) Obligate Aerobes (*tidak dapat hidup tanpa O₂*)

(2) Facultative Aerobic (*dapat hidup dengan atau tanpa O₂*)

(3) Micro-Aerophiles (O₂-dependent)
(*hidup subur dengan sedikit O₂*)

2. *An Aerobes:*

- ***Obligate anaerobes (kelompok terprimitif)***

Memerlukan O₂ yang sangat sedikit.

Proses pembentukan energi tidak dijalankan dengan O₂.

O₂ meracuni diri (memproduksi perozide dan superoxide yang tidak bisa membuangnya, karena **tidak punya enzim**)

C. Klasifikasi berdasarkan sumber energinya:

1. Fotoautotrof, yang memperoleh energi dari cahaya matahari
2. Kemoautotrof, yang memperoleh energi dengan cara mengoksidasi senyawa kimiawi
3. Heterotrof, yang memperoleh energi dari senyawa organik sebagai sumber karbonnya

D. Klasifikasi berdasarkan suhu:

1. *Psychophiles*

Tumbuh baik pada suhu dingin di bawah 0 *Celcius*. (penting untuk keperluan :

- manajemen gudang pendingin penyimpanan:
 - makanan dan
 - darah/produk darah (PMI)

2. *Thermophiles*

Tumbuh di sumber air panas, sayur busuk.

Contoh: “*Famer’s lung*” (= *allergic alveolus*)

Hadir di bidang penyimpanan:

- biji gandum & rumput kering, jerami.

Pencegahan: tempat kering, dingin dan ventilasi baik → mencegah spora tumbuh. → pekerja pakai masker.

Yang hidup pada suhu > 40 C: (spesies *Camphylobacter*).

3. *Mesophiles* (Ini parasit pada manusia)

Tumbuh terbesar jumlahnya.

Tumbuh baik pada suhu 20-40 C.

(hampir semua parasit tumbuh subur pada suhu 37 C).

Sebagian berkembang subur pada suhu 20C, Sebagian hanya pada 30-39 C (neiseria GO). Hanya sebagian bisa tahan hidup pada suhu 40 C: Yersina pestis:

Optimal pada suhu 27 C.

E. Klasifikasi berdasarkan pH:

- Toleransi dan preferensi terhadap pH lingkungan **sangat berbeda-beda.**
- Sebagian besar (yang dikenal di bidang medis) → tumbuh baik di media yang **alkalis (base)**
- Media kultur diatur jangan cepat jadi asam.
- **Lactobacillus** adalah satu di antara bakteri flora yang senang di media asam → bisa menjaga **pH vagina** untuk mencegah jamur tumbuh.
- **Vibrio cholera** tumbuh baik pada pH sekitar 8.5

TERIMA KASIH