

IDENTIFIKASI BAKTERI PATOGEN GRAM NEGATIF PADA ALAT PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI DI LABORATORIUM CENTRAL STIKES MAHARANI MALANG

Vita Ainun Nurhasanah, Erni Yohani Mahtuti^{*}, Yeni Avidhatul Husnah

Prodi Teknologi Laboratorium Medis, STIKes Maharani Malang, Malang, 65143, Indonesia

^{*} Corresponding author: Erni Yohani Mahtuti
email: yohanierni@stikesmaharani.ac.id

Received July 01, 2024; Accepted July 31, 2024; Published July 31, 2024

ABSTRAK

Tumpukan peralatan laboratorium dan kurangnya sterilisasi secara rutin bisa berkontribusi pada pertumbuhan serta kontaminasi bakteri patogen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri patogen gram negatif yang ada pada peralatan praktikum mikrobiologi di Laboratorium Central STIKes Maharani Malang. Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan desain penelitian analitik. Teknik pengambilan sampel menggunakan *purposive sampling*. Tahapan dalam penelitian ini meliputi pengambilan sampel swab pada permukaan alat praktikum mikrobiologi, pembuatan isolasi koloni bakteri dengan media MCA (*Mac Conkey Agar*), pembuatan biakan murni media agar miring MCA, pengamatan makroskopis, dan uji biokimia. Bakteri ditumbuhkan pada media MCA selama 2x24 jam. Hasil penelitian dengan pewarnaan gram menunjukkan bakteri gram negatif, berbentuk batang, menyebar, berwarna merah. Uji biokimia menunjukkan glukosa (+g), laktosa (+), manitol (+), maltosa (+), sukrosa (+), H₂S (-), indol (-), Mr (*Methyl Red*) (-), Vp (*Voges Praskaur*) (+), citrat (+), motilitas (-), ditemukan spesies bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Hasil kedua menunjukkan glukosa (+g), laktosa (+), mannitol (+), maltosa (+), sukrosa (+), H₂S (-), indol (+), Mr (*Methyl Red*) (+), Vp (*Voges Praskaur*) (-), citrat (-), motilitas (-), ditemukan spesies bakteri *Escherichia coli*. Kesimpulan penelitian ini adalah ditemukan adanya bakteri gram negatif berbentuk batang, menyebar, dan berwarna merah. Sedangkan dari uji biokimia menggunakan glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sukrosa, indol, MR, VP, dan citrat didapatkan temuan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: uji biokimia, identifikasi, alat praktikum, mikrobiologi

ABSTRACT

Stacks of laboratory equipment and lack of routine sterilization can contribute to the growth and contamination of pathogenic bacteria. This research aimed to determine the types of gram-negative pathogenic bacteria present in the microbiology practicum equipment at the Central STIKes Maharani Malang Laboratory. This type of research is descriptive research with an analytical research design. The sampling technique uses *purposive sampling*. This research involves taking swab samples on the surface of practical microbiology equipment, isolating bacterial colonies using MCA (*Mac Conkey Agar*) media, making pure cultures on MCA slanted agar media, macroscopic observations, and biochemical tests. Bacteria were grown on MCA media for 2x24 hours. The results of research using gram staining showed gram-negative bacteria, rod-shaped, spread, and red.

How to cite this article: Surname N, Surname N. Title of the manuscript. Journal borneo. 2024; 4(2): 67-80



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



Biochemical tests showed glucose (+g), lactose (+), mannitol (+), maltose (+), sucrose (+), H₂S (-), indole (-), Mr (Methyl Red) (-), Vp (Voges Praskaur) (+), citrate (+), motility (-), the bacterial species Klebsiella pneumoniae was found. The second result shows glucose (+g), lactose (+), mannitol (+), maltose (+), sucrose (+), H₂S (-), indole (+), Mr (Methyl Red) (+), Vp (Voges Praskaur) (-), citrate (-), motility (-), found Escherichia coli bacterial species. This study concluded that it was found that gram-negative bacteria were rod-shaped, spread, and red. Meanwhile, from biochemical tests using glucose, lactose, mannitol, maltose, sucrose, indol, MR, VP, and citrate, Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli bacteria were found.

Keywords: biochemical tests, identification, laboratory equipment, microbiology

PENDAHULUAN

Bakteri patogen dapat terdiri atas dua golongan, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan penyebaran penyakit pada petugas yang sering bekerja di suatu fasilitas kesehatan salah satunya seperti laboratorium. Bakteri dengan sifat patogen lebih berbahaya dan umumnya didapatkan pada bakteri gram negatif daripada bakteri gram positif karena bakteri gram negatif memiliki membran plasma dan dinding sel yang terdiri dari membran luar, lapisan peptidoglikan, dan juga periplasma yang membentuk selubung gram negatif. Membran luar dan selubung tersebut melindungi bakteri gram negatif, sehingga obat antibiotik sulit masuk ke dalam sel bakteri. Akibatnya, bakteri dapat bertahan hidup dan terus menginfeksi meskipun telah diberikan antibiotik¹. Bakteri gram negatif juga dapat melepaskan zat endotoksin (lipoposakarida) ketika mengalami gangguan pada membran luarnya. Endotoksin tersebut adalah racun yang dapat memperparah gejala infeksi yang disebabkan. Kemampuan resistensi antibiotik dan melepaskan endotoksin membuat bakteri gram negatif lebih berbahaya².

Ada banyak jenis laboratorium yang dapat kita temukan, salah satunya adalah laboratorium mikrobiologi. Pengujian mikrobiologi berperan penting dalam menjaga kebersihan dan keamanan lingkungan kampus khususnya laboratorium. Mengidentifikasi bakteri patogen di lingkungan kampus merupakan langkah awal dalam mencegah penyebaran penyakit dan infeksi³. Identifikasi bakteri patogen ini sangat penting untuk menghindari resiko penularan infeksi kepada staf dan mahasiswa yang menggunakan fasilitas tersebut. Meskipun penting, identifikasi bakteri patogen pada alat-alat laboratorium seringkali diabaikan atau kurang mendapatkan perhatian yang cukup. Tumpukan peralatan dan kurangnya sterilisasi secara rutin bisa berkontribusi pada pertumbuhan serta kontaminasi bakteri patogen. Kontaminasi oleh bakteri merupakan masalah yang sering menyerang kultur jaringan pada penelitian mahasiswa. Oleh karena itu, Kebersihan dan keamanan alat-alat laboratorium harus menjadi prioritas utama untuk mencegah insiden yang tidak diinginkan³.

Didasarkan pada penelitian sebelumnya oleh (Mahtuti, 2017) tentang pengelolaan rumah tinggal sehat terhadap ragam cemaran mikroba pada rumah perkotaan dijelaskan bahwa rumah sehat tersebut terdapat ragam cemaran mikroba yang berupa bakteri dan jamur. Pada cemaran bakteri didapatkan bakteri dengan karakterisasi rujukan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* adalah cemaran bakteri *Escherichia coli* inactive, *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella azaenae* dan *Propionibacterium acne*. Pada hasil identifikasi ragam cemaran jamur yakni *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* dan *Trichosporun mucoides*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa di rumah sehat saja masih terdapat paparan bakteri dan jamur, apalagi jika di laboratorium kampus yang sering kali menjadi tempat orang berlalu-lalang. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh ² tentang identifikasi bakteri pada *Nutrient Agar Plate* di laboratorium mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Palangka Raya dijelaskan bahwa sampel bakteri di ruang laboratorium mikrobiologi yang dibiakkan di media nutrient agar 100% ada pertumbuhan. Jenis bakteri yang didapatkan adalah bakteri *Streptococcus* gram negatif 41,7%, *Staphylococcus* gram negatif 41,7% dan *Staphylococcus* gram positif 16,7%. Penelitian tersebut dapat juga menunjukkan bahwa pada suatu media yang digunakan untuk pemeriksaan mikrobiologi saja terdapat cemaran bakteri, apalagi pada alat-alat laboratorium yang digunakan.

Dilain sisi bakteri gram negatif tersebut termasuk salah satu masalah kesehatan masyarakat yang paling signifikan di dunia karena tingginya resistensi terhadap antibiotik dan memiliki mekanisme yang mencegah aktivitas antimikroba yang banyak digunakan dalam pengobatan klinis. Oleh karena itu peneliti ingin mengkaji “Identifikasi Bakteri Patogen Gram Negatif Pada Alat Praktikum Mikrobiologi Di Laboratorium *Central STIKes Maharani Malang*” dengan tujuan untuk meningkatkan cara penanganan, penyimpanan, dan pemeliharaan alat laboratorium sehingga data yang dikumpulkan dapat dikelola dengan baik.

METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Central STIKes Maharani Malang* pada bulan Februari 2024-Mei 2024. Sampel dari penelitian, berupa swab dari 10 jenis alat praktikum mikrobiologi yaitu autoklaf, cawan petri, tabung reaksi, bunsen, inkubator, mikroskop, neraca analitik, gelas ukur, erlenmeyer, dan *beaker glass*. Teknik sampling dalam penelitian ini menggunakan *purposive sampling*. Analisa data yang digunakan secara deskriptif dengan penyajian data menggunakan tabel tabulasi dimana akan dikelompokkan berdasarkan uji yang telah dilakukan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah kapas lidi steril (Onemed[®]), tabung reaksi (Pyrex[®]), *beaker glass* (Herma[®]), neraca analitik, batang pengaduk, spatula, pipet tetes, erlenmeyer (Herma[®]), bunsen, cawan petri, autoklaf, inkubator (Dnp-9052), jarum ose, *object glass*, *aluminium foil*, gelas ukur (Herma[®]), mikroskop (Olympus[®]), corong kaca (Pyrex[®]), kertas label, dan kapas. Bahan yang digunakan adalah NaCl 0,9%, akuades, media MCA (*Mac Conkey Agar*), media gula-gula (glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sukrosa), media indol, media MR (*Methyl Red*), media VP (*Voges Proskauer*), media *citrat*, *peptone water*, reagen *konvac indol*, reagen *methyl red*, indikator BTB (*Bromtimol Blue*), reagen *alfa naftol*, 1 set pewarnaan gram, minyak imersi.

Isolasi Media Mac Conkey Agar Plate¹

Menyiapkan media agar MCA yang sudah disterilisasi sebelumnya, lalu tanam suspensi bakteri menggunakan teknik streaking ke dalam media agar MCA, kemudian inkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C dalam inkubator selama 2x24 jam, setelah itu lakukan pengamatan pada pertumbuhan bakteri.

Kultur Biakan Murni Agar Miring Mac Conkey Agar¹

Menyiapkan 10 tabung reaksi yang sudah berisi media padat, isolasi bakteri dan alat yang akan digunakan (jarum ose, bunsen), pijarkan bagian ujung ose diatas nyala api bunsen sampai berwarna merah, setelah itu dinginkan ose beberapa saat, dekatkan mulut tabung pada nyala api bunsen, dengan membuka kapas penutup, kemudian pindahkan suspensi bakteri 1 ose ke media agar miring MCA, lalu menggunakan teknik streak dengan cara zig-zag diatas agar miring, tutup kembali tabung menggunakan kapas, letakkan biakan murni secara miring, dan setelah selesai ose digunakan pijarkan kembali pada nyala api bunsen untuk mencegah kontaminasi bakteri, lalu berikan label keterangan pada tabung agar tidak tertukar dan tanggal pembuatan, setelah itu inkubasi biakan murni dalam inkubator selama 2x24 jam suhu 37°C dan mengamati pertumbuhan bakteri.

Pewarnaan Gram¹

Menyiapkan pewarnaan gram dan biakan murni bakteri, setelah itu lakukan dengan mengambil sampel yang sudah dipindahkan pada biakan murni, kemudian pijarkan ose bulat pada nyala api bunsen, tunggu hingga dingin, selanjutnya ambil 1 koloni pada biakan murni menggunakan ose bulat yang sudah steril, lakukan fiksasi terlebih dahulu pada obyek glass yang sudah diberi pulasan biakan murni bakteri dengan nyala api bunsen, setelah kering kemudian tetesi dengan *gentian violet* diatas *object glass* secara merata, kemudian bilas menggunakan air bersih, tetesi dengan larutan lugol selama 3 menit kemudian membilas menggunakan air bersih, tahap selanjutnya teteskan dengan larutan alkohol selama 30 menit, tambahkan larutan safranin dan diamkan selama 45 detik

hingga 1 menit, selanjutnya bilas dengan air bersih mengalir, keringkan *object glass*, kemudian amati menggunakan mikroskop perbesaran lemah hingga 100x dan diamati adanya morfologi bakteri

Penanaman Pada Media Biokimia¹

Media gula-gula

Memijarkan terlebih dahulu ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan, selanjutnya ambil koloni bakteri dari biakan murni dengan cara mendekatkan mulut tabung pada nyala api bunsen, lakukan penanaman dari biakan murni ke media gula-gula dengan cara mencelupkan ose ke dalam media kemudian tutup kembali tabung dengan kapas kering, selanjutnya semua media dalam tabung reaksi diinkubasi ke dalam inkubator selama 2x24 jam suhu 37°C, hasil menunjukkan reaksi positif apabila terjadi perubahan warna menjadi kuning dan menghasilkan gas. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri mampu memfermentasi karbohidrat.

Media indol

Memijarkan terlebih dahulu ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan, selanjutnya ambil koloni bakteri dari biakan murni dengan cara mendekatkan mulut tabung pada nyala api bunsen, lakukan penanaman dari biakan murni ke media indol dengan cara mencelupkan ose bulat ke dalam media, selanjutnya semua media dalam tabung reaksi diinkubasi ke dalam inkubator selama 2x24 jam suhu 37°C, setelah itu teteskan reagen kovac untuk mengetahui hasil uji, hasil menunjukkan positif apabila terbentuk warna merah ditandai adanya pergerakan kuman sebaliknya apabila tidak terbentuk warna merah tandanya bakteri negatif terhadap indol.

Media methyl red

Memijarkan terlebih dahulu ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan, selanjutnya ambil koloni bakteri dari biakan murni dengan cara mendekatkan mulut tabung pada nyala api bunsen, lakukan penanaman dari biakan murni ke media MR dengan cara mencelupkan ose bulat ke dalam media, selanjutnya semua media dalam tabung reaksi diinkubasi ke dalam inkubator selama 2x24 jam suhu 37°C, setelah itu ditambah 5 tetes reagen MR untuk mengetahui hasil uji, hasil menunjukkan positif apabila warna medium menjadi merah, sedangkan hasil negatif menunjukkan tidak terjadi perubahan warna pada medium (tetap berwarna kuning).

Media voges proskauer

Memijarkan terlebih dahulu ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan, selanjutnya ambil koloni bakteri dari biakan murni dengan cara mendekatkan mulut tabung pada nyala api bunsen, lakukan penanaman dari biakan murni ke media VP dengan cara mencelupkan ose bulat ke dalam media, selanjutnya semua media dalam tabung reaksi diinkubasi ke dalam inkubator selama

2x24 jam suhu 37°C, setelah itu teteskan reagen *alfa naftol* untuk mengetahui hasil uji, hasil menunjukkan positif apabila warna medium menjadi merah, sedangkan hasil negatif menunjukkan tidak terjadi perubahan warna pada medium (tetap berwarna kuning).

Media simmon citrat

Memijarkan terlebih dahulu ose bulat sampai merah membara, kemudian dinginkan, selanjutnya ambil koloni bakteri dari biakan murni dengan cara mendekatkan mulut tabung pada nyala api bunsen, lakukan penanaman dari biakan murni ke media *simmon citrat* dengan cara zig-zag ke dalam media kemudian menutup kembali dengan kapas kering, selanjutnya semua media dalam tabung reaksi diinkubasi ke dalam inkubator selama 2x24 jam suhu 37°C, hasil menunjukkan positif apabila terjadi perubahan warna menjadi biru, sedangkan negatif tetap berwarna hijau.

HASIL PENELITIAN

Pada pertumbuhan bakteri yang telah dilakukan isolasi menggunakan media MCA, dilakukan inkubasi selama 2x24 jam. Pertumbuhan bakteri hasil isolasi menggunakan media MCA dapat dilihat sesuai pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan pertumbuhan makroskopis koloni bakteri pada media MCA

Kode Sampel	Sampel	Hasil	Ciri-ciri	Identifikasi
A1	Autoklaf	-	-	-
A2	Cawan Petri		Koloni berbentuk bulat, cembung, berwarna merah muda, berlendir, dan permukaan basah.	Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>
A3	Tabung Reaksi		Koloni berbentuk bulat, cembung, berwarna merah muda, berlendir, dan permukaan basah.	Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>
A4	Bunsen		Koloni berbentuk bulat, cembung, berwarna merah muda, berlendir, dan permukaan basah.	Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>

			
A5	Inkubator		Koloni berbentuk bulat, merah kecoklatan, sedikit cembung, kering, permukaannya halus dan rata. Bakteri <i>Escherichia coli</i>
A6	Mikroskop		Koloni berbentuk bulat, cembung, berwarna merah muda, berlendir, dan permukaan basah. Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>
A7	Neraca		Koloni berbentuk bulat, cembung, berwarna merah muda, berlendir, dan permukaan basah. Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>
A8	Gelas Ukur		Koloni berbentuk bulat, merah kecoklatan, sedikit cembung, kering, permukaannya halus dan rata. Bakteri <i>Escherichia coli</i>
A9	Erlenmeyer		Koloni berbentuk bulat, cembung, berwarna merah muda, berlendir, dan permukaan basah. Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>
A10	Beaker Glass		Koloni berbentuk bulat, cembung, berwarna merah muda, berlendir, dan permukaan basah. Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>

Didapatkan hasil pada sampel cawan petri, tabung reaksi, bunsen, mikroskop, neraca, erlenmeyer, dan beaker glass ditemukan adanya koloni berbentuk bulat, cembung, berwarna merah muda, berlendir, dan permukaan basah. pada sampel inkubator, dan gelas ukur ditemukan adanya

koloni berbentuk bulat, merah kecoklatan, sedikit cembung, kering, permukaannya halus dan rata. Pada tahap selanjutnya koloni pada media dilakukan isolasi ke media agar miring MCA untuk dijadikan biakan murni. Biakan murni digunakan untuk mengamati morfologi bakteri seperti pada tabel 2.

Tabel 2. Biakan murni bakteri dari media MCA alat praktikum mikrobiologi

Kode Sampel	Sampel	Hasil	Ciri-ciri
A1	Autoklaf	-	-
A2	Cawan Petri		Koloni berwarna merah muda, berlendir, dan permukaannya basah.
A3	Tabung Reaksi		Koloni berwarna merah muda, berlendir, dan permukaannya basah.
A4	Bunsen		Koloni berwarna merah muda, berlendir, dan permukaannya basah.
A5	Inkubator		Koloni berwarna merah sedikit kecoklatan, kering, serta permukaannya halus dan rata.

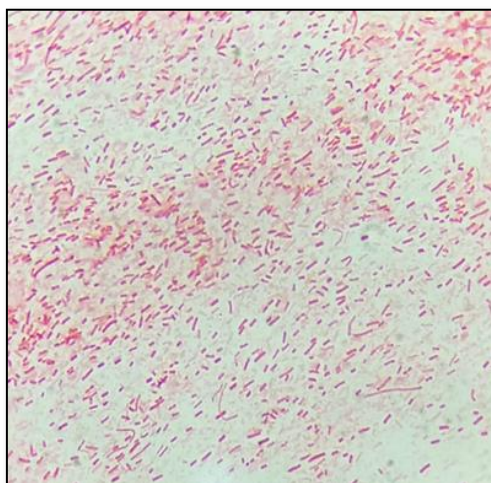
A6	Mikroskop		Koloni berwarna merah muda, berlendir, dan permukaannya basah.
A7	Neraca		Koloni berwarna merah muda, berlendir, dan permukaannya basah.
A8	Gelas Ukur		Koloni berwarna merah sedikit kecoklatan, kering, serta permukaannya halus dan rata.
A9	Erlenmeyer		Koloni berwarna merah muda, berlendir, dan permukaannya basah.
A10	Beaker Glass		Koloni berwarna merah muda, berlendir, dan permukaannya basah.

Tahapan selanjutnya dilakukan pengamatan secara makroskopis yaitu dengan cara pewarnaan gram. Pewarnaan gram ini dilakukan bertujuan untuk membedakan antara bakteri gram negatif dengan bakteri gram positif selanjutnya, dilakukan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Terlihat adanya bakteri gram negatif, memiliki morfologi batang, susunannya menyebar, dan berwarna merah pada masing-masing sampel, seperti terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pewarnaan gram

Kode Sampel	Sampel	Morfologi	Susunan	Warna	Gram
A1	Autoklaf	-	-	-	-
A2	Cawan Petri	Batang	Menyebar	Merah	Negatif
A3	Tabung Reaksi	Batang	Menyebar	Merah	Negatif
A4	Bunsen	Batang	Menyebar	Merah	Negatif
A5	Inkubator	Batang	Menyebar	Merah	Negatif
A6	Mikroskop	Batang	Menyebar	Merah	Negatif
A7	Neraca	Batang	Menyebar	Merah	Negatif
A8	Gelas Ukur	Batang	Menyebar	Merah	Negatif
A9	Erlenmeyer	Batang	Menyebar	Merah	Negatif
A10	Beaker Glass	Batang	Menyebar	Merah	Negatif

Berdasarkan tabel 3 dapat dilihat hasil dari pewarnaan gram bakteri pada masing-masing sampel swab alat praktikum mikrobiologi menggunakan perbesaran 1000x seperti pada gambar 1, diketahui hasil pewarnaan gram tersebut adalah bakteri gram negatif dengan morfologi batang, susunannya menyebar, dan berwarna merah.



Gambar 1. Hasil pewarnaan gram bakteri pada sampel bunsen (perbesaran 1000x)

Tahapan setelah pewarnaan gram dilanjutkan dengan uji biokimia, yang bertujuan untuk mengetahui spesies bakteri pada alat praktikum mikrobiologi. Adapun macam-macam uji biokimia yang dilakukan yaitu, glukosa, laktosa, mannitol, maltosa, sukrosa, H₂S, indol, motilitas, MR (*Methyl Red*), VP (*Voges Praskaeur*), dan citrat dengan hasil pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji biokimia bakteri alat praktikum mikrobiologi

Sampel	Glu	Lac	Man	Mal	Suc	H ₂ S	Ind	Mot	MR	VP	Cit	Spesies Bakteri
Autoklaf	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cawan Petri	+g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Tabung Reaksi	+g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Bunsen	+g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Inkubator	+g	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	<i>Escherichia Coli</i>
Mikroskop	+g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Neraca	+g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Gelas Ukur	+g	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	<i>Escherichia Coli</i>
Erlenmeyer	+g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Beaker Glass	+g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Keterangan: Glu = glukosa; Lac = laktosa; Man = manitol; Suc = sukrosa; Ind = indol; Mot = motilitas; MR = *methyl red*; VP = *voges praskaeur*; Cit = *citrat*; +g = positif & terdapat gas pada tabung durham

Selanjutnya, dari tabel 4 hasil uji biokimia bakteri alat praktikum mikrobiologi, dapat dilihat pada sampel cawan petri, tabung reaksi, bunsen, mikroskop, neraca, erlenmeyer, dan beaker glass menunjukkan pada glukosa (+g) positif bewarna kuning dan terdapat gas, pada laktosa, mannitol, maltosa, dan sukrosa (+) positif bewarna kuning, indol (-) negatif tidak terbentuk cicin bewarna merah, MR (-) negatif tidak terjadi perubahan warna menjadi merah, VP (+) positif terjadi perubahan warna merah pada permukaan, *citrat* (+) terjadi perubahan dari warna hijau menjadi biru sehingga hasil tersebut mengarah pada temuan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Dilanjutkan pada sampel inkubator dan gelas ukur menunjukkan hasil glukosa (+g) positif bewarna kuning dan terdapat gas, pada laktosa, mannitol, maltosa, sukrosa (+) positif bewarna kuning, indol (+) positif terdapat cicin bewarna merah, MR (+) positif terjadi perubahan dari kuning menjadi merah, VP (-) negatif tidak terjadi perubahan warna, *citrat* (-) negatif tidak terjadi perubahan warna sehingga mengarah pada temuan bakteri *Escherichia coli*.

PEMBAHASAN

Berdasarkan pertumbuhan koloni bakteri dengan menggunakan Media agar MCA. Media MCA digunakan dalam menekan pertumbuhan bakteri gram positif serta dapat digunakan dalam identifikasi bakteri. Berdasarkan pemeriksaan pewarnaan gram dan uji biokimia, hasil dari pemeriksaan yang telah dilakukan di Laboratorium *Central STIKes Maharani* menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli*.

Pada uji biokimia bakteri *Klebsiella pneumoniae* menggunakan glukosa, laktosa, manitol,

maltosa, dan sukrosa untuk membentuk asam, mengurai nitrat menjadi nitrit yang selanjutnya dipecah menjadi nitrogen gas, sehingga dikategorikan (+) positif setelah mengalami perubahan berwarna kuning dan terdapat gas pada glukosa¹. Pada uji H₂S dikategorikan (-) negatif karena menandakan bakteri tidak dapat mengubah asam *amino alanine* dalam pertumbuhannya, pada uji indol dikategorikan (-) negatif karena bakteri tersebut tidak mampu mendegradasi asam amino triptofan sehingga tidak menghasilkan indol dan tidak terbentuk cincin indol berwarna merah setelah ditetesi reagen *konvac*, uji MR dikategorikan (-) negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna larutan menjadi berwarna merah, isolat bakteri menunjukkan isolasi bakteri tidak dapat memfermentasikan glukosa untuk menghasilkan asam yang ditunjukkan dengan adanya warna kuning pada media, uji VP dikategorikan (+) positif karena bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat memfermentasi karbohidrat menjadi produk asam dan dapat menghasilkan produk netral seperti asetonin sehingga terdapat perubahan warna dari kuning menjadi merah pada permukaan tabung². Uji *citrat* dikategorikan (+) positif karena bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat memanfaatkan *citrat* sebagai sumber karbon yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru pada media uji *citrat* tersebut⁴. uji motilitas dikategorikan (-) negatif karena tidak terdapat kekeruhan pada media indol¹. Pada 10 sampel yang telah dilakukan uji biokimia didapatkan hasil 7 sampel positif terdapat bakteri *Klebsiella pneumoniae* seperti pada tabel 4.

Selanjutnya, pada bakteri *Escherichia coli* menggunakan glukosa, laktosa, mannitol, maltosa, dan sukrosa untuk membentuk asam, mengurai nitrat menjadi nitrit yang selanjutnya dipecah menjadi nitrogen gas, sehingga dikategorikan (+) positif setelah mengalami perubahan berwarna kuning dan terdapat gas pada glukosa¹. Pada uji H₂S dikategorikan (-) negatif karena menandakan bakteri tidak dapat mengubah asam amino alanine dalam pertumbuhannya, pada uji indol dikategorikan (+) positif karena bakteri tersebut dapat mendegradasi asam amino triptofan sehingga menghasilkan indol dan terbentuknya cincin indol berwarna merah setelah ditetesi reagen *konvac*, uji MR dikategorikan (+) positif yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah dimana bakteri dapat memfermentasi glukosa dan menghasilkan produk bersifat asam, uji VP dikategorikan (-) negatif karena artinya bakteri menunjukkan tidak dapat memproduksi *acetyl methyl carbinol* dari fermentasi glukosa ditunjukkan dengan adanya warna kuning pada medium sehingga tidak ada perubahan warna media dari kuning menjadi merah pada permukaan tabung². Pada uji *citrat* dikategorikan (-) negatif karena bakteri *Escherichia coli* tidak memanfaatkan *citrat* sebagai sumber karbon yang ditunjukkan tidak adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru pada media uji *citrat* tersebut⁵. Uji motilitas dikategorikan (-) negatif karena tidak terdapat kekeruhan pada media indol¹. Pada 10 sampel yang telah dilakukan uji biokimia didapatkan hasil 2 sampel positif terdapat bakteri

Escherichia coli seperti pada tabel 4.

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* bisa ditemukan di alat-alat laboratorium karena keberadaannya yang umum di lingkungan sekitar kita. Sebagai bakteri yang umumnya ditemukan di tanah, air, dan lingkungan lainnya, *Klebsiella pneumoniae* dapat menempel pada permukaan alat-alat laboratorium jika tidak dibersihkan secara menyeluruh atau jika sanitasi tidak dijaga dengan baik. Koloni *Klebsiella pneumoniae* memiliki beberapa ciri khas yang dapat membantu dalam identifikasi yaitu, koloni umumnya berbentuk bulat atau bundar dengan tepi yang halus, bervariasi dalam ukuran, tetapi seringkali memiliki diameter yang cukup besar, berwarna merah muda, memiliki tekstur yang halus, berlendir, dan basah. Dalam beberapa kasus, koloni *Klebsiella pneumoniae* juga dapat memiliki bau yang khas, meskipun ini bukan ciri yang konsisten dan dapat bervariasi. *Klebsiella pneumoniae* adalah patogen yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia, terutama pada saluran pernapasan⁶. Jika ada sampel atau bahan dari pasien yang terinfeksi yang diolah di laboratorium tanpa tindakan keamanan yang tepat, kemungkinan *Klebsiella pneumoniae* akan terbawa dan menempel pada alat-alat laboratorium tersebut. Oleh karena itu, penting untuk menjaga kebersihan dan sanitasi alat-alat laboratorium secara rutin serta menerapkan praktik-praktik keamanan yang tepat saat menangani sampel yang berpotensi mengandung bakteri patogen seperti *Klebsiella pneumoniae*. Jika *Klebsiella pneumoniae* terdapat dalam lingkungan laboratorium dan tidak dikelola dengan baik, ada resiko infeksi bagi individu yang terpapar⁷.

Bakteri *Escherichia coli* adalah organisme yang umum ditemukan di lingkungan, terutama di usus manusia dan hewan. Karena itu, keberadaannya di laboratorium bisa terjadi karena beberapa faktor yaitu, sampel yang diuji di laboratorium, terutama sampel yang berasal dari manusia atau hewan, dapat mengandung bakteri *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* dapat tumbuh pada media MCA, dimana media tersebut selektif terhadap pertumbuhan bakteri gram negatif. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Kartikasari (2019) pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media MCA, memiliki ciri-ciri yaitu, koloni berwarna merah muda ataupun merah kecoklatan dimana warna merah tersebut disebabkan oleh indikator pH dalam media yang berubah menjadi merah akibat produksi asam oleh bakteri selama fermentasi laktosa⁵. Koloni *Escherichia coli* berbentuk bulat, memiliki tekstur halus dan rata, dan tidak cenderung menghasilkan lendir yang terlihat. Kontaminasi pada alat-alat laboratorium yang di akibatkan oleh bakteri *Escherichia coli* ini dapat terjadi jika proses pengambilan, pengolahan, atau penanganan sampel tidak dilakukan dengan benar. *Escherichia coli* juga dapat masuk ke dalam laboratorium melalui udara, debu, atau kontaminan lainnya di lingkungan sekitar. Hal ini bisa terjadi jika lingkungan laboratorium tidak cukup bersih. Manusia, termasuk staf laboratorium, juga bisa menjadi sumber kontaminasi

Escherichia coli jika mereka terinfeksi atau jika kebersihan pribadi mereka tidak dijaga dengan baik dan penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ditemukan adanya bakteri gram negatif berbentuk batang, menyebar, dan berwarna merah. Sedangkan dari uji biokimia menggunakan Glukosa, Laktosa, Mannitol, Maltosa, Sukrosa, Indol, MR, VP, dan Citrat didapatkan temuan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sanjaya ZW. Gambaran Bakteri Gram Negatif pada Limbah Cair Laboratorium Klinik Stikes Maharani Malang. 2023. 8–65 hlm.
2. Rahmah WN, Sartika F, Madureni YES. Identifikasi Bakteri Pada Nutrient Agar Plate Palangka Raya Identification Of Bacteria On Nutrient Agar Plate At The Universitas Muhammadiyah Palangkaraya ' s Microbiology Laboratory. Borneo J Med Lab Technol BJMLT. 2023;5:338–43.
3. Putri PKPD, Yustiantara IPS. Review: Efektivitas Sterilisasi Dengan Ozon (O3) Pada Peralatan Laboratorium Sebagai Upaya Penjaminan Kualitas Dan Mutu. J Sci Mandalika JSM E-ISSN 2745-5955 P-ISSN 2809-0543. 2023;4(5):62–70.
4. Labunda AI, Fatayati I, Slamet. Identifikasi bakteri *Klebsiella pneumonia* pada Swab Luka Diabetes Mellitus di Klinik Perawatan Luka Kota Pontianak. Malahayati Health Stud J. 2024;4(2):598–604.
5. Kartikasari AM, Hamid IS, Elziyad MT, Damayanti R, Fikri F, Praja RN. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Kontaminan Pada Daging Ayam Broiler Di Rumah Potong Ayam Kabupaten Lamongan. J Med Vet. 2019;2(1):66–71.
6. Dorawati M, Herawati I, Fauziah PN. Identifikasi Bakteri Gram Negatif dari Sputum Penderita Infeksi Saluran Pernapasan Akut di Rumah Sakit Dustira Kota Cimahi. J Ilm Anal Kesehat. 2021;7(1):37–44.
7. Konoralma K. Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Umum Gmim Pancaran Kasih Manado. J Kesmas. 2019;8(1):23–35.