



Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* Pada Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Dr. Rusdi Medan

Nurbaity Situmorang^{1*}, Ester Mida Margaretha Silitonga²

¹Universitas Nahdlatul Ulama Sumatera Utara, Indonesia

²Rumah Sakit Advent Medan, Indonesia

*Situmorang.n@gmail.com

Abstract. *Laboratory of Microbiology is an essential supporting infrastructure in supporting the success of health student's learning. The presence of bacteria found in the Microbiology Laboratory is often the cause of contaminants in the sample, so that incorrect results can occur in bacteria identification. One of the most frequently contaminating bacteria is Staphylococcus sp. This study aims to identify the bacteria Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis which contaminated the Laboratory of Microbiology of Politeknik Kesehatan Dr. Rusdi. The research method was descriptive with laboratory observations. The samples of this study were all bacteria that grew on the surface of MSA media placed in low light intensity, high light intensity and near the air conditioner. The results of bacterial identification obtained were Staphylococcus sp bacteria with Gram-positive characteristics in the form of cocci, clustered resembling grapes, capable of fermenting mannitol and color changes in MSA media. From the results of the catalase test, all bacteria showed positive catalase, so it can be concluded that the bacteria obtained were Staphylococcus aureus.*

Keyword: *Identification, Bacterial Contaminants, Staphylococcus, Laboratorium*

Abstrak. Laboratorium Mikrobiologi merupakan prasarana penunjang yang sangat penting dalam menunjang keberhasilan pembelajaran mahasiswa kesehatan. Keberadaan bakteri yang ditemukan di Laboratorium Mikrobiologi sering kali menjadi penyebab kontaminasi pada sampel, sehingga dapat terjadi hasil yang salah pada identifikasi bakteri. Salah satu bakteri yang paling sering mengkontaminasi adalah *Staphylococcus* sp. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* yang mengkontaminasi Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Dr. Rusdi. Metode penelitian yang digunakan adalah secara deskriptif dengan observasional laboratorium. Sampel penelitian ini adalah semua bakteri yang tumbuh pada permukaan media MSA yang diletakkan pada intensitas cahaya rendah, intensitas cahaya tinggi dan dekat air conditioner. Hasil identifikasi bakteri diperoleh bakteri *Staphylococcus* sp dengan ciri - ciri Gram positif berbentuk kokus, bergerombol menyerupai anggur, mampu memfermentasi mannitol dan terjadi perubahan warna pada media MSA. Dari hasil uji katalase diperoleh semua bakteri menunjukkan katalase positif, sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri yang didapatkan adalah *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: Identifikasi, Bakteri kontaminan, Staphylococcus, Laboratorium

PENDAHULUAN

Laboratorium merupakan prasarana penunjang kegiatan pembelajaran yang sangat penting dalam menunjang keberhasilan pembelajaran baik siswa pada pendidikan menengah maupun mahasiswa pada pendidikan tinggi. [1] Salah satu prasarana penunjang yang sangat penting dalam menunjang keberhasilan pembelajaran mahasiswa kesehatan adalah Laboratorium Mikrobiologi. Di dalam Laboratorium Mikrobiologi terjadi aktivitas praktikum terkait mempelajari, menyimpan dan melakukan pelayanan dalam bidang Mikrobiologi yang meliputi bakteri, virus dan jamur. Fungsi utama Laboratorium Mikrobiologi, membantu menegakkan diagnosis penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba, melakukan uji kepekaan serta penelitian – penelitian yang berkaitan dengan mikroba. Sekalipun yang diuji atau diteliti adalah mikroba, namun sterilitas merupakan hal yang mutlak pada pemeriksaan mikrobiologi.[2]

Kontaminasi mikroba adalah salah satu hambatan terbesar bagi praktikan ataupun peneliti yang bekerja di Laboratorium Mikrobiologi. Konsentrasi cemaran mikroba yang tinggi di laboratorium Mikroba umumnya terjadi karena pengelolaan yang kurang baik, sehingga menyebabkan sulitnya mendapatkan hasil penelitian yang akurat. [3] Mikroba tersebut dapat berada dimana-mana dan salah satu tempat yang menjadi keberadaan mikroba yaitu udara. [4]

Udara bukanlah suatu medium tempat mikroba tumbuh, tetapi merupakan pembawa bahan partikulat, debu dan tetesan air yang semuanya sangat mungkin menjadi tempat hidup mikroba. Kondisi akhir mikroba asal udara diatur oleh keadaan lingkungan sekelilingnya, seperti kelembapan, cahaya matahari dan suhu. Mikroba yang umumnya berkeliaran di udara lingkungan rumah sakit, termasuk ruang Laboratorium adalah bakteri *Bacillus sp*, *Eschericia coli*, *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*, dan *Pseudomonas sp* [4][5][6] dan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri yang paling sering ditemukan. [7][8][9]

Mikroba dapat di udara melalui berbagai cara terutama dari debu yang beterbangan. Mikroba yang tersebar di udara dikenal sebagai istilah bioaerosol. Bioaerosol adalah partikel debu yang terdiri atas makhluk hidup atau sisa yang berasal dari makhluk hidup terutama Jamur dan bakteri. Pengaruh kesehatan yang paling utama yang ditimbulkan oleh bioaerosol ini antara lain iritasi mata, kulit dan saluran pernapasan (ISPA). Jumlah koloni mikroba di udara tergantung aktifitas dalam ruangan serta banyaknya debu dan kotoran lain.[10] Udara yang sehat menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 1077/MENKES/PR/V/2011 menyebutkan bahwa kadar maksimal untuk bakteri adalah 0 CFU/m³. [11]

Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* (*S. albus*) yang mengkontaminasi Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Dr. Rusdi.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif dengan pendekatan observasional yaitu dengan melakukan isolasi bakteri udara menggunakan medium Nutrient Agar (NA). Bakteri yang tumbuh pada medium NA dipindahkan pada medium selektif Mannitol Salt Agar (MSA), selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram dan Uji Katalase untuk identifikasi bakteri.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas kimia, tabung reaksi, erlenmeyer, tangkai pengaduk, kaca benda, ose cincin, pipet tetes, cawan petri, lampu bunsen, inkubator, autoklaf dan mikroskop. Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini, yaitu Nutrient Agar (NA), Mannitol Salt Agar (MSA), *Immersi oil*, aquadest, alkohol 96%, lugol, gentian violet, fuchsin dan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%.

Prosedur Kerja

Isolasi Bakteri Pada Media NA

1. Siapkan cawan petri yang telah berisi media nutrient agar secara higienis
2. Letakkan cawan petri ±80 cm di atas lantai serta berjarak 100 cm dari dinding pada setiap sudut ruang Laboratorium Mikrobiologi dengan kriteria intensitas cahaya rendah, intensitas cahaya tinggi dan di dekat air conditioner.
3. Buka penutup cawan petri selama ±8 menit, untuk mengisolasi bakteri udara.
4. Tutup kembali cawan petri dengan pembungkus/ *cling wrap*, selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu ±37°C selama 1x24 jam.
5. Selanjutnya bakteri akan diinokulasikan pada media selektif MSA untuk mendapatkan koloni tunggal dan murni.

Purifikasi Bakteri Pada Media MSA

1. Siapkan cawan petri berisi media MSA
2. Ambil 1 (satu) ose biakan bakteri pada media NA, kemudian inokulasikan secara higienis pada permukaan media MSA dengan goresan zig-zag, selanjutnya inkubasi pada suhu ±37°C selama 2x24 jam.
3. Amati perubahan warna yang terjadi pada media.
4. Ambil *single cell* koloni pada permukaan media kemudian lakukan pewarnaan Gram.
5. Amati hasil pewarnaan Gram dibawah mikroskop, catat warna dan bentuk sel bakteri yang terlihat.

Uji Katalase

1. Siapkan *object glass* yang bersih, selanjutnya ambil 1 (satu) ose biakan bakteri yang berasal dari Kultur Media MSA dan oleskan pada *object glass*.
2. Teteskan Hidrogen Peroksida (H_2O_2) 3% pada biakan bakteri diatas *object glass*.
3. Campur suspensi secara perlahan dengan menggunakan ose dan amati gelembung gas yang terbentuk

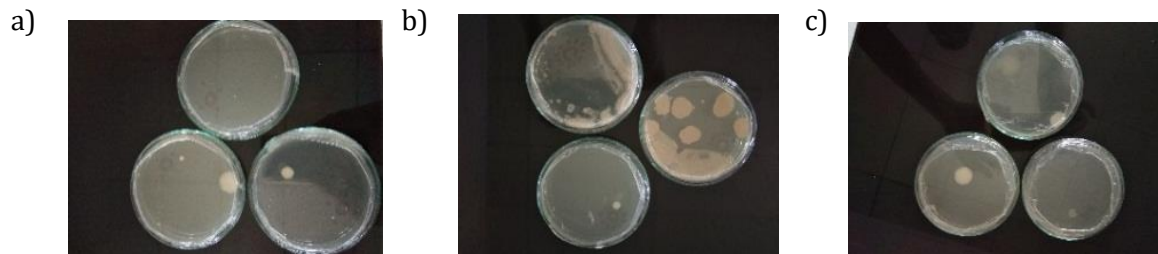
Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif yaitu dengan mendeskripsikan hasil pengamatan mikroskopis, makroskopis pertumbuhan bakteri pada permukaan media dan uji katalase, selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri dengan mengacu pada buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology*. [12]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini terdapat 3 (tiga) titik pengambilan sampel yaitu (a) titik dengan intensitas cahaya rendah, (b) intensitas cahaya tinggi dan (c) titik yang dekat dengan *air conditioner*.

Hasil Isolasi Bakteri Pada Media NA



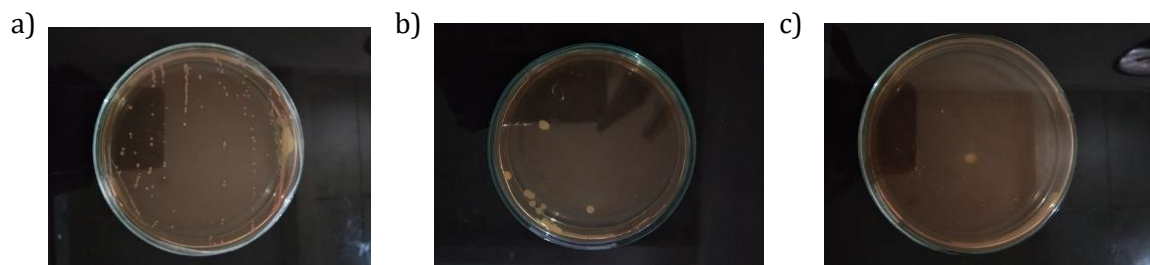
Gambar 1. a) Isolasi bakteri ada Intensitas cahaya rendah, b) Intensitas cahaya tinggi dan c) dekat air conditioner

Dari hasil isolasi bakteri didapatkan pertumbuhan bakteri yang paling banyak ditemukan pada cawan petri yang diletakkan pada titik dengan intensitas cahaya rendah (a) dimana pertumbuhan koloni terlihat sangat rapat dan menutupi seluruh permukaan Media NA, Intensitas cahaya yang rendah akan menyebabkan kelembaban menjadi relatif tinggi dan meningkatkan pertumbuhan Mikroba. [9]

Pada titik dengan intensitas cahaya yang tinggi (b), selain bakteri terdapat juga kontaminan jamur yang tumbuh pada permukaan media Nutrient Agar. Intensitas cahaya yang tinggi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi tingkat pertumbuhan jamur, dimana intensitas cahaya yang tinggi menyebabkan suhu meningkat. Umumnya jamur dapat tumbuh pada suhu 20 – 35°C. Jamur yang terdapat di udara dalam bentuk spora dan mampu menyebar di udara dengan mudah, sehingga sering kali jamur ini menjadi pengkontaminan.[13][3]

Sedangkan pada titik di dekat *Air Conditioner* (titik c) koloni bakteri yang tumbuh pada permukaan media Nutrient Agar hanya sedikit. Rentang suhu optimum pertumbuhan bakteri adalah 30 - 35°C, suhu yang rendah cenderung menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga hasil isolasi pada titik tersebut paling sedikit diantara titik yang lain. [14]

Purifikasi Bakteri Pada Media MSA



Gambar 2. a) Isolasi bakteri ada Intensitas cahaya rendah, b) Intensitas cahaya tinggi dan c) dekat air conditioner

Seluruh isolat yang tumbuh pada permukaan Media NA di inokulasikan pada media selektif MSA. Hasil pengamatan morfologi koloni (Gambar 2) menunjukkan adanya pertumbuhan koloni dengan elevasi cembung, tepian halus, bau yang khas, berwarna

kuning (a & b) dan putih kekuningan (c). Purifikasi pada media MSA bertujuan untuk memurnikan koloni bakteri *Staphylococcus* sp. Dari hasil pengamatan juga dapat terlihat perbedaan dalam hal memfermentasi mannitol, dimana hanya isolat a dan b yang mampu memfermentasi mannitol ditandai dengan adanya perubahan warna perubahan warna merah menjadi kuning pada bagian atas dan bawah media, sedangkan pada isolat c tidak terjadi perubahan warna.

MSA merupakan media selektif untuk identifikasi *Staphylococcus* sp. karena mengandung garam natrium klorida 7.5% sehingga mampu menseleksi sebagian besar bakteri tidak dapat tumbuh kecuali *Staphylococcus*. [15] MSA juga merupakan media differensial yang digunakan untuk membedakan *S. aureus* dan *S. epidermidis*. Bakteri *S. aureus* dapat memfermentasi Mannitol sehingga media MSA akan berubah dari warna merah menjadi kuning keemasan sedangkan *S. epidermis* tidak dapat memfermentasi Mannitol. [16]

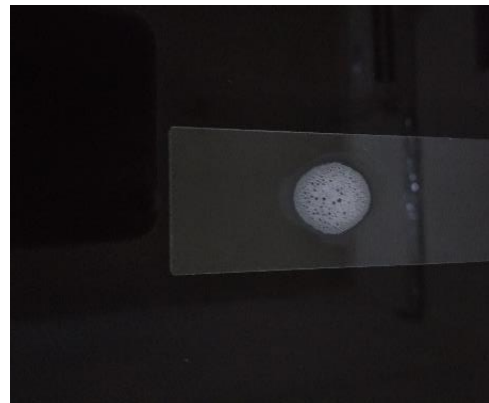
S. aureus membentuk koloni berwarna abu – abu sampai kuning emas tua. *S. aureus* membentuk pigmen *lipochrom* yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. Pigmen kuning tersebut menjadi pembeda dengan *S. epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih.[17] Berdasarkan kemampuan memfermentasi mannitol dan warna pigmen koloni diduga isolat a dan b merupakan *S. aureus* dan isolat c adalah *S. epidermidis*. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat a dan b merupakan bakteri Gram positif, berbentuk *coccus* dan bergerombol seperti anggur sedangkan isolat c merupakan Gram negatif dan berbentuk batang. Dari hasil pewarnaan gram menegaskan bahwa isolat a dan b adalah *S. aureus* sedangkan isolat c bukan bakteri *S. epidermidis* dan perlu uji biokimiawi lebih lanjut untuk menentukan jenis bakteri isolat c.

Uji Katalase

a)



b)



Gambar 3. a) Isolat bakteri ada Intensitas cahaya rendah dan b) Intensitas cahaya tinggi

Dari hasil uji katalase (Gambar 3) terlihat bahwa kedua koloni bakteri positif bergelembung yang membuktikan bahwa kedua isolat tersebut adalah *Staphylococcus aureus*. Enzim katalase atau peroksidase sangat berperan dalam kelangsungan hidup mikroba. Uji katalase ini mendeteksi enzim katalase pada bakteri yang bersifat aerob dan anaerobic fakultatif. Uji katalase berguna dalam identifikasi kelompok bakteri tertentu. Uji katalase pada bakteri *coccus* digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* dan



Streptococcus. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya gelembung – gelembung gas (O₂) setelah dilakukan penambahan beberapa tetes H₂O₂ 3%. [18]

S. aureus merupakan bakteri Gram positif, *coccus*, tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, non-motil, non-spora, anaerob fakultatif, katalase positif dan mampu memfermentasi Mannitol. [12] Berdasarkan ciri – ciri tersebut maka dari keseluruhan isolat yang diidentifikasi diperoleh hasil bahwa dua isolat merupakan *S. aureus* yaitu isolat a & b, sedangkan untuk *S. epidermidis* tidak ditemukan. Untuk isolat c perlu identifikasi lebih lanjut untuk menentukan jenis bakteri tersebut

KESIMPULAN

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa hanya bakteri *S. aureus* yang mengkontaminasi Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Dr. Rusdi yaitu isolat a & b, sedangkan *S. epidermidis* tidak ditemukan.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] K. Munandar, *Pengenalan Laboratorium IPA - Biologi*, Edisi I. Bandung: PT. Refika Aditama, 2016.
- [2] F. J. Rachmawati and S. Y. Triyana, "Perbandingan Angka Kuman Pada Cuci Tangan Dengan Beberapa Bahan Sebagai Standarisasi Kerja di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia," *Logika*, vol. 5, no. 1, pp. 1–13, 2008, doi: 10.20885/logika.vol5.iss1.art3.
- [3] E. Abatenh, B. Gizaw, and Z. Tsegaye, "Contamination in a Microbiological Laboratory," *Int. J. Res. Stud. Biosci.*, vol. 6, no. 4, pp. 7–13, 2018, doi: 10.20431/2349-0365.0604002.
- [4] B. V. Palawe, C. Kountul, and O. Waworuntu, "Identifikasi Bakteri Aerob Di Udara Ruang Operasi Instalasi Bedah Sentral (Ibs) Rsup Rof. Dr. R. D. Kandou Manado," *J. e-Biomedik*, vol. 3, no. 3, 2015, doi: 10.35790/ebm.3.3.2015.10563.
- [5] S. Bahadar *et al.*, "Isolation and Identification of Common Contaminants Bacteria from Working Area in Microbiology Laboratory," *J. Bio-Molecular Sci.*, vol. 3, no. 2, pp. 74–78, 2015, [Online]. Available: <https://pdfs.semanticscholar.org/2f5d/7801f1cb9e3f6929ef576a78a6aaec332bda.pdf> <https://api.semanticscholar.org/2f5d/7801f1cb9e3f6929ef576a78a6aaec332bda>.
- [6] S. Ayu Wulan and S. Tri Umiana, "Kualitas Mikrobiologi Udara dan Identifikasi Jenis Mikroorganisme Pada Ruang Murai rsud dr. h. Abdoel Moeloek Bandar Lampung," *J. Medula*, vol. 10, no. 3, pp. 34–40, 2020.
- [7] J. Konar and S. Das, "Common Contaminants of Bacteriology Laboratory: Microbiological Paramores," *Int. J. Pharm. Sci. Invent.*, vol. 2, no. 11, pp. 36–37, 2013.
- [8] Amiril Arifin, "Isolasi Dan Identifikasi Bakteri di Lingkungan Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUDZA Banda Aceh," *J. Ilm. Mhs. Kedokt. Komunitas*, vol. 1, no. 4, pp. 1–8, 2016, [Online]. Available: <http://jim.unsyiah.ac.id/FKK/article/download/1407/740>.
- [9] Iswadi, Samingan, and H. Yulisman, "Identifikasi Jenis Bakteri Udara Di Ruangan Bersistem HVAC (Heating Ventilation And Air Conditioning)," 2014, Prosiding., pp. 288–293.
- [10] N. K. Fithri, P. Handayani, and G. Vionalita, "Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Jumlah Mikroorganisme Udara Dalam Ruang Kelas Lantai 8 Universitas Esa Unggul," *Forum Ilm.*, vol. 13, no. 1, pp. 15–16, 2016.
- [11] M. Kesehatan and R. Indonesia, *Peraturan Menteri Kesehatan Indonesia No*



- 1077/Menkes/PER/2011. Indonesia: Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2011, pp. 1–32.
- [12] J. G. Holt and D. H. Bergey, *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- [13] A. A. Saputra, B. M. Akbar, and Karneli, "Gambaran Jamur Udara pada Laboratorium Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Palembang Tahun 2017," *J. Kesehat. Palembang*, vol. 12, no. 2, pp. 97–102, 2018, [Online]. Available: <http://jurnal.poltekkespalembang.ac.id/index.php/jpp/article/download/40/17>.
- [14] W. Wulandari, A. H. Sutomo, and S. Iravati, "Angka Kuman Udara Dan Lantai Ruang Rawat Inap Rumah Sakit Pku Muhammadiyah Yogyakarta," *J. Berk. Kesehat.*, vol. 1, no. 1, pp. 13–20, 2015, doi: 10.20527/jbk.v1i1.655.
- [15] L. N. Hayati, W. Tyasningsih, R. N. Praja, S. Chusniati, M. N. Yunita, and P. A. Wibawati, "Isolasi dan Identifikasi Staphylococcus aureus pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi," *J. Med. Vet.*, vol. 2, no. 2, pp. 76–82, 2019, doi: 10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82.
- [16] Badan Standardisasi Nasional, *Cara uji mikrobiologi - Bagian 9: Penentuan Staphylococcus aureus pada produk perikanan*. Indonesia: Badan Standardisasi Nasional, 2015, p. 8.
- [17] A. K. Dewi, "Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas Staphylococcus aureus terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta," *J. Sain Vet.*, vol. 31, no. 2, 2013.
- [18] E. J. Karimela, F. G. Ijong, and A. T. Agustin, "Staphylococcus sp. Pada Ikan Layang (*Decapterus russelii*) Asap Pinekuhe Produk Khas Sangihe," *Media Teknol. Has. Perikan.*, vol. 1, no. 2, pp. 59–63, 2013, doi: 10.35800/mthp.1.2.2013.2928.