



Deteksi dan Isolasi Mikroorganisme

Dr. Mia Miranti Rustama, MP.

Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi F-MIPA

Universitas Padjadjaran





UNPAD
LUHUNG

LIVE



Deteksi Mikroorganisme di Lingkungan

Metode Konvensional Metode Molekular

1. Mendeteksi mikroorganisme dalam medium spesifik.
2. Deteksi Mikroba pencemar pada sampel tanah, udara dan air
3. Mikroba Pencemar udara (deteksi virus)

1. Analisis pencegahan, diagnosis, dan penanganan penyakit menular.
2. Identifikasi sumber polusi di lingkungan.
3. Uji risiko kesehatan masyarakat
4. Studi dan evaluasi penyakit epidemiologi dari isolat mikroba sampel lingkungan.
5. Deteksi dan tipifikasi virus, bakteri, dan mikobakteria di lingkungan dari air atau limbah yang dibandingkan dengan kultur
6. Deteksi bakteri yang tidak dapat dikultur.

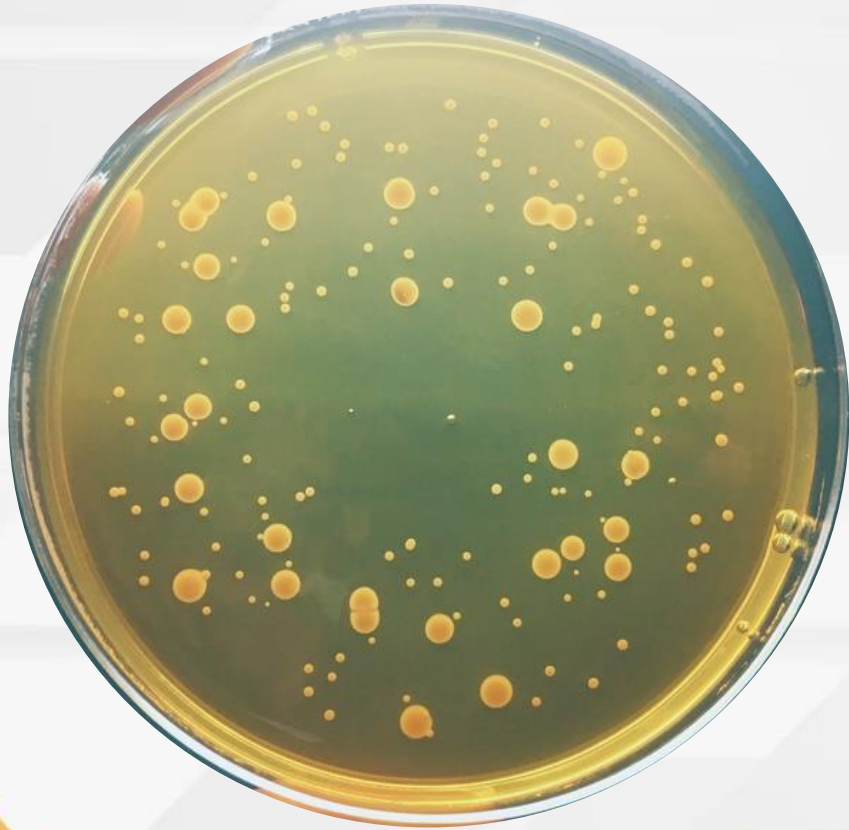


UNPAD
LUHUNG

LIVE



Analisis Kualitas Mikrobiologis Tanah dan Udara



TPC (*Total Plate Count*):

- Perhitungan total koloni mikroba yang ditumbuhkan dalam media padat.
- Tujuan: mengetahui dan menghitung jumlah koloni atau tingkat populasi mikroorganisme pada media pertumbuhan secara langsung.
- Keunggulan: Dapat menghitung sel mikroorganisme yang masih hidup (*viable*) pada media pertumbuhan dan dapat digunakan untuk mengisolasi serta identifikasi mikroba.

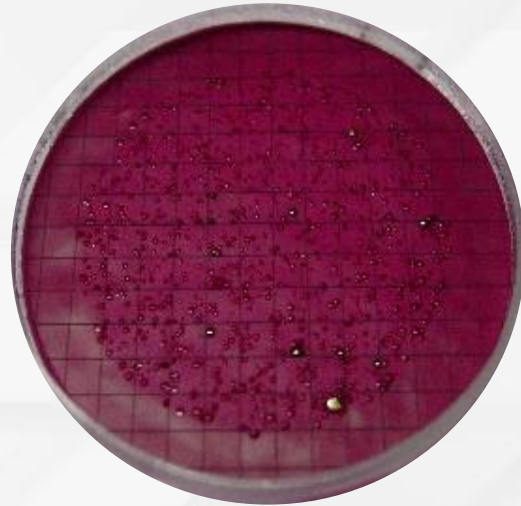
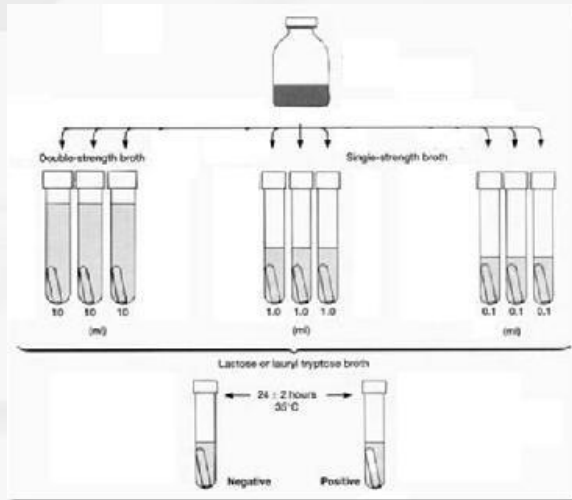


UNPAD
LUHUNG

LIVE



Analisis Kualitas Mikrobiologis Air



MPN (*Most Probable Number*)

- Menganalisis kualitas air secara statistik dengan teori probabilitas.
- Tujuan: Memperkirakan jumlah bakteri coliform yang terdapat pada sampel air.
- Tahapan uji: *presumptive test*, *confirmative test*, dan *completed test*.
- Ditentukan dengan kombinasi jumlah tabung positif (asam dan gas).

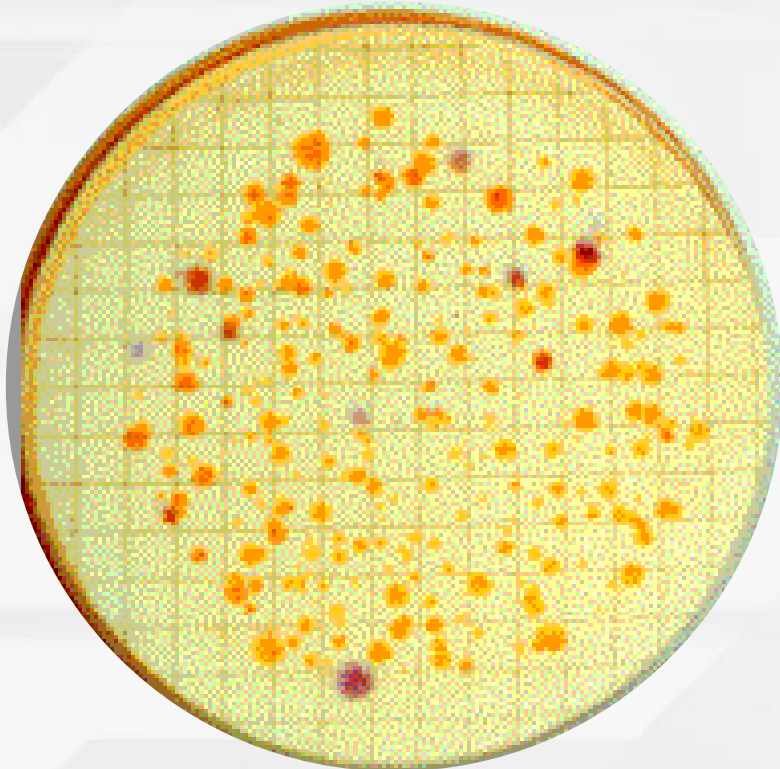


UNPAD
LUHUNG

LIVE



E. Coli by mTEC media



Digunakan untuk menganalisis kriteria:

1. Recreational water
2. Ambient water
3. Ground water
4. Drinking water

Hasil:

- Non-target colonies
- Warna ungu menandakan pemecahan urea
- Kenaikan pH (*E. coli* tidak memproduksi urea)

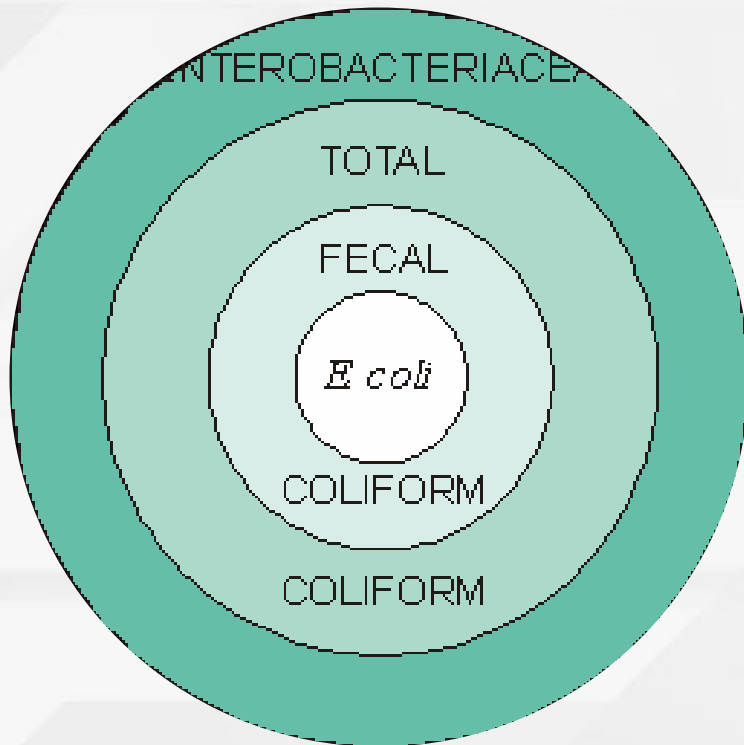


UNPAD
LUHUNG

LIVE



Karakteristik Coliform



1. Total coliforms

- Gram negatif
- Memfermentasi laktosa pada 35 ° C
- Menyebar di lingkungan

2. Fecal coliforms

- Memfermentasi laktosa pada 44.5 °C
- Dapat berasal dari tinja
- Sebagai indicator air rekreasi
- Contoh bakteri: Fecal streptococci (enterococci), *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*



UNPAD
LUHUNG

LIVE



Standar Kualitas Air

nomor tabung yang positif			indeks MPN per 100 ml	95% batas kepercayaan	
10 ml	1 ml	0,1 ml		terendah	tertinggi
0	0	1	3	<0.5	9
0	1	0	3	<0.5	13
1	0	0	4	<0.5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	150
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	380
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800

1. Drinking water

– No coliform contamination acceptable

2. Public water supply water

– 2000 fecal coliforms per 100 mL

3. Recreational water

– 200 fecal coliforms per 100 mL

4. Fish and wildlife habitat

– 5000 fecal coliforms per 100 mL

5. Shellfish

– 14 fecal coliforms per 100 mL

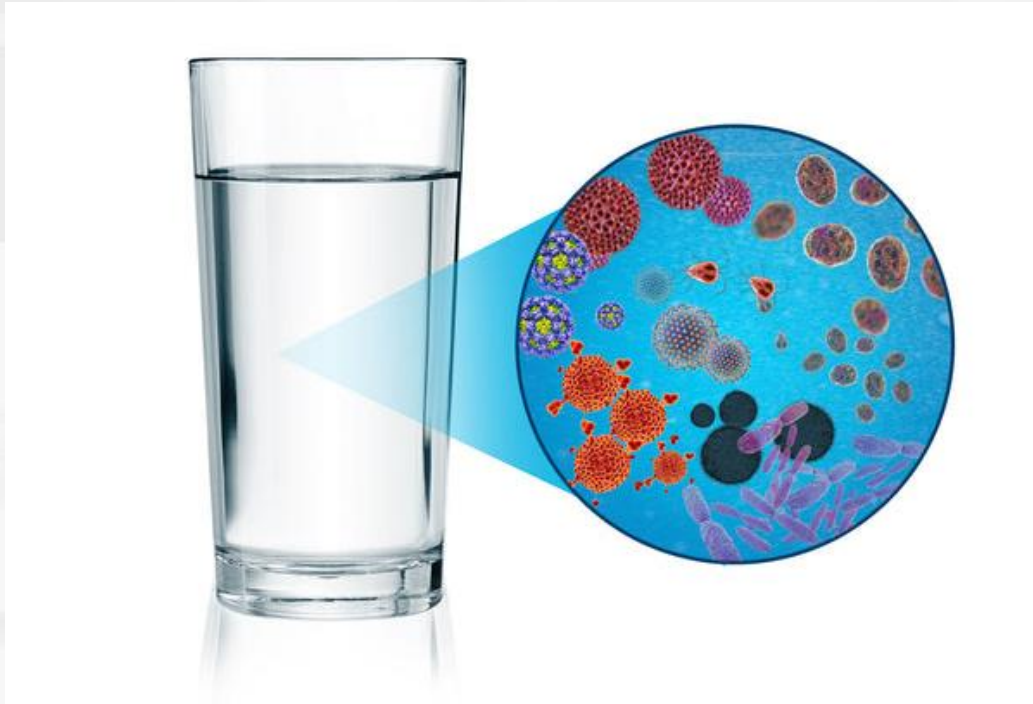


UNPAD
LUHUNG

LIVE



Pengolahan Air



Metode filtrasi bertujuan untuk menghilangkan mayoritas bakteri patogen. Berikut merupakan beberapa proses desinfeksi:

- chlorination
- ozonation
- lagooning
- slow sand filtration
- activated sludge



UNPAD
LUHUNG

LIVE



Kriteria Teknik Identifikasi dan Tipifikasi Mikroorganisme

- Efisien
- Hasil dapat direplikasi
- Stabil: Efisiensi dalam mempertahankan profil mikroorganisme
- Efisiensi perbandingan (sekitar 95%)
- Identifikasi epidemiologi
- Variabilitas
- Mudah diaplikasikan
- Hasil mudah diinterpretasi
- Biaya terjangkau



UNPAD
LUHUNG

LIVE



Metode Molekular Mikrobiologi Lingkungan

Keunggulan:

- Cepat
- Sensitif
- Spesifik
- Akurat
- Efektif
- Mudah dipelajari

Kekurangan:

- *False positive* (terutama pada Nested PCR).
- *False negative* (akibat keberadaan inhibitor).
- Dibutuhkan spesialisasi laboran dan laboratorium.
- Mendeteksi mikroorganisme patogen.
- Metode yang tidak dapat diukur.



UNPAD
LUHUNG

LIVE



Teknik Mikrobiologi

1. Kultur Sel
2. Non-Kultur Sel
 - a. Immunofluorescent
 - b. Radio Immuno Assay (RIA)
 - c. ELISA
 - d. Flow cytometry
 - e. Metode molekular

Metode Tipifikasi

1. Fenotipik
2. Antibigram
3. Klasifikasi biotipe
4. Klasifikasi perserotipe
5. Tipifikasi bakteriosin
6. Tipifikasi phage
7. Genotipik



UNPAD
LUHUNG

LIVE



Pendekatan Molekular Identifikasi Mikroorganisme

1. Deteksi Asam Nukleat

- Analisis Plasmid
- Analisis DNA kromosomal
- Dot blot
- Slot blot
- Southern blot
- In situ hybridization
- PCR and application
- Real time PCR
- Microarray
- Teknik DNA proliferasi dan sequencing

2. Analisis Protein

- Analisis profil protein
- Analisis antigen



UNPAD
LUHUNG

LIVE



Aplikasi PCR

Bakteri patogen dikultur pada media berbeda yang digunakan untuk strain klinis.

1. Nested PCR
2. Multiplex PCR
3. PCR-Restriction Enzyme Analysis (PCR-REA) atau PCR-RFLP
4. Cell Culture PCR
5. Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

Manfaat:

- Dapat diaplikasikan pada mikroorganisme apapun
- Prosesnya cepat (48 jam)
- Ekonomis
- Mudah diaplikasikan

Kekurangan:

- Reproduktivitas hasil



UNPAD
LUHUNG

LIVE



Aplikasi Teknik Molekuler dari Sampel Lingkungan

1. Deteksi dan tipifikasi mikobakteria pada sampel air
2. Multiplex PCR: Pengembangan metode simultan untuk deteksi *Salmonella* spp. dan *Shigella* spp. pada kerang, *Vibrio* spp., *Salmonella* spp. dan *E. coli* dari sampel lingkungan.
3. Pengembangan metode molekuler untuk deteksi virus dan phage pada kerang.
4. Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD): Identifikasi perbandingan pola elektroforetik dari protein dan genetik strain *Pseudomonas* sampel air serta pengembangan teknik untuk membedakan asal *E. coli*.
5. PCR Sequencing: Deteksi, identifikasi, dan tipifikasi Enteroviruses, Adenoviruses, HAV, Rotaviruses, Novoviruses yang diisolasi dari limbah.
6. Deteksi parasite (*Cryptosporidium* dan *Giardia*) pada air minum.



UNPAD
LUHUNG

LiVE

Terima Kasih