

Perbandingan Berbagai Metode Pengecatan Spora pada *Bacillus Cereus*

*Comparison of Various Sporary Methods on *Bacillus Cereus**

**WIDODO
DEVI ETEVIA PURLINDA
AHMAD RIADI**

*Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Semarang
Jl. Wolter Monginsidi Pedurungan Tengah Semarang
Email: widosst125@gmail.com*

Abstrak

Endospor dibentuk oleh beberapa anggota genera bakteri gram positif, seperti *Bacillus* dan *Clostridium*. Spora sangat resisten struktur; tahan terhadap suhu air mendidih selama dua jam atau lebih. Mereka mengandung sedikit air dan menunjukkan sangat sedikit reaksi kimia. lingkungan eksternal menguntungkan akan menyebabkan spora rusak dan vegetative sel muncul untuk tumbuh dan berkembang biak. Mengidentifikasi patogen pembentuk endospore adalah penting dalam mikrobiologi makanan dan medis. Namun, spora mengandung banyak lapisan pelindung, yang tidak dapat ditembus dengan mudah oleh noda pengecatan sederhana atau teknik pewarnaan Gram. Oleh karena itu perlu aplikasikan panas untuk membantu penetrasi warna, dengan beberapa metode pengecatan Gram, pengecatan spora metode fluorescent, pengecatan spora metode *Schaeffer* and *Fulton* dan pengecatan spora metode Klien. Hasil pengecatan metode *fluorescent* memiliki hasil yang lebih baik akan tetapi memerlukan peralatan yang jauh lebih mahal penggunaan mikroskop *fluorescent* dengan pertimbangan fasilitas yang harus disediakan pengecatan metode *Schaeffer* and *Fulton* sebagai alternative bila tidak memiliki fasilitas tersebut .

Kata Kunci: *Bacillus Cereus* ; Spora ; Metode pengecatan

Abstract

*Endospores are formed by members of several genera of gram-positive bacteria, such as *Bacillus* and *Clostridium*. The spores are very resistant structurally; withstand the temperature of boiling water for two hours or more. They contain very little water and show very few chemical reactions. The favorable external environment will cause the spores to break down and the vegetative cells to appear to grow and reproduce. Identification of endospore-forming pathogens is important in food and medical microbiology. However, the spores contain multiple protective layers, which cannot be easily penetrated by simple staining or Gram staining techniques. Therefore, it is necessary to apply heat to help penetrate the color, with various methods of Gram stain, fluorescent spore painting, *Schaeffer* and *Fulton* spore painting and Client's spore painting method. The results of the fluorescent painting method have better results but require much more expensive equipment using a fluorescent microscope considering the facilities that must be provided for the *Schaeffer* and *Fulton* painting method as an alternative if they do not have these facilities.*

Keywords: *Bacillus Cereus* ; Spores ; Painting Method

1. Pendahuluan

Bacillus cereus merupakan Gram positif memiliki bentuk batang, anaerob fakultatif dalam kondisi lingkungan tidak menguntungkan membentuk spora, mempunyai flagella petritrichous untuk pergerakan (Ehling et al (2015)). *Bacillus cereus* terdiri 3 spesies utama



penyebab patogen makanan *Bacillus cereus*, biopestisida *Bacillus thuringiensis*, patogen penyebab antraks *Bacillus anthracis* Ehling et al (2019), Tuipulotu et al (2021).

Endospor dibentuk oleh beberapa anggota genera bakteri gram positif, seperti *Bacillus* dan *Clostridium*. Spora sangat resisten struktur; tahan terhadap suhu air mendidih selama dua jam atau lebih. Mereka mengandung sedikit air dan menunjukkan sangat sedikit reaksi kimia. Kapan lingkungan eksternal menguntungkan, spora lapisan pelindung rusak dan vegetative sel muncul untuk tumbuh dan berkembang biak. Diantara penyakit penting yang disebabkan oleh spesies berbeda bakteri pembentuk endospore adalah tetanus, botulism, gangren gas, dan anthrax Schichnes, et al (2006) dan Driks, A. (1999).

Mengidentifikasi patogen pembentuk endospore adalah penting dalam mikrobiologi makanan dan medis. Namun, spora mengandung banyak lapisan pelindung, yang tidak dapat ditembus dengan mudah oleh noda menggunakan sederhana atau teknik pewarnaan Gram. Oleh karena itu perlu aplikasikan panas untuk membantu penetrasi noda. Kehendak panas memaksa noda ke spora dan sel vegetatif, dan keduanya akan menjadi hijau. Dengan membilas slide, sel vegetatif akan kehilangan warna tetapi spora akan tetap hijau. Counterstaining dengan safranin noda sel vegetatif merah muda, tetapi tidak berpengaruh spora berdasarkan permasalahan tersebut penelitian ini membandingkan beberapa metode untuk mendapatkan hasil yang optimal dalam pengecatan spora.

2. Metode

Penelitian ini bersifat eksperimental memberikan perlakuan pada sampel uji berupa pemanasan. Sampel penelitian ini adalah *Bacillus cereus* yang diidentifikasi dengan menggunakan alat Vitek 2 Compaks, hasil identifikasi kemudian dikultur kembali untuk mendapatkan bakteri dengan usia kultur 18 jam.

Pembuatan preparat dilakukan dengan cara memberikan stress panas pada sampel uji dengan memanaskan tabung reaksi berisi suspensi beberapa saat. Kemudian di buat preparat sebanyak 12 kemudian masing masing preparat di lakukan pengecatan Gram sebanyak 3 buah, pengecatan spora metode fluorescent sebanyak 3 buah, pengecatan spora metode Schaeffer and Fulton sebanyak 3 buah, pengecatan spora metode **Klien** sebanyak 3 buah.

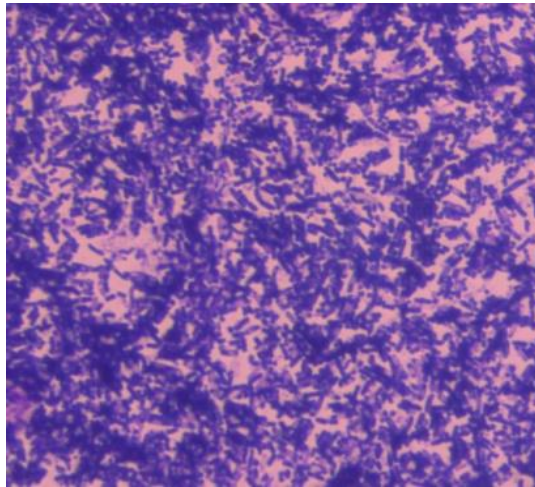
Pengecatan gram preparat dicat dengan urutan gram A berisi Kristal violet , amonium oksalat, natrium bikarbonat Smith (2005) selama 1 menit, gram B berisi Iodium dan KI lama pengecatan 30 detik, Gram C dekolorisasi campuran acetone dan etanol 50:50 selama 30 detik sampe cat tidak terlihat ungu, gram D safranin selama 1 menit setiap pergantian proses di cuci dengan air mengalir. Thairu et al (2014)

Pengecatan fluorescent preparat dilakukan pengecatan dengan Auramine O yang ditambahkan phenol selama 15 menit, kemudian dilakukan dekolorisasi dengan asam alcohol sampai warna kuning hilang jangan digenagi, kemudian dilakukan pengecatan dengan $KmnO_4$ selama 1 menit pergantian proses pengecatan dengan dibilas air mengalir. Gurung, (2018).

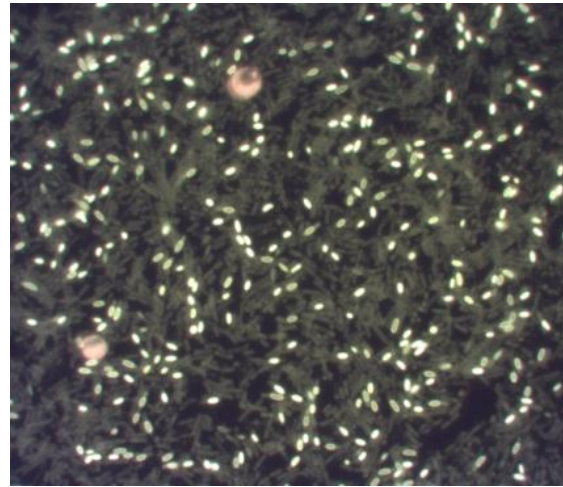
3. Hasil dan Pembahasan

Pengecatan spora pada *Bacillus cereus* sebagai salah satu deteksi untuk membedakan antara bakteri gram lainnya yang tidak mampu membentuk spora ada beberapa metode yang dapat dilakukan pada gambar 1 kode a merupakan morfologi *Bacillus cereus* dengan pewarnaan gram menunjukkan badan bakteri berwarna ungu tua dari kristal violet dengan latar berwarna merah safranin tidak nampak spora pada pewarnaan ini , kode b merupakan morfologi *Bacillus cereus* dengan pengecatan fluorescent menunjukkan spora berwarna kuning kehijauan menyala dari Auramine O pengamatan menggunakan mikroskop fluorescent, badan bakteri berwarna hijau pucat dengan latar berwarna hitam gelap $KmnO_4$, kode c merupakan morfologi *Bacillus cereus* dengan pengecatan Schaeffer and Fulton menunjukkan spora berwarna hijau dari pengecatan malachite green, badan bakteri berwarna merah dari safranin dengan latar belakang merah pucat, kode d merupakan morfologi

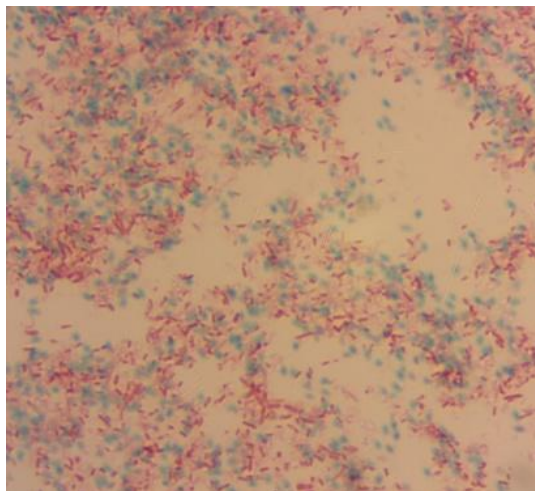
Bacillus cereus dengan pengecatan kline spora berwarna merah dari merah fuchsins badan bakteri berwarna biru dari metilen blue sedangkan latar belakang putih. Oktari, et al (2017), Schichnes, et al (2006).



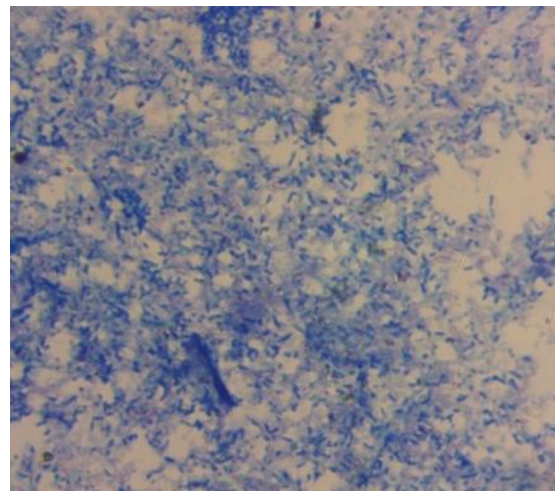
a.) Morfologi bakteri pengecatan gram *Bacillus cereus*



b.) Morfologi bakteri pengecatan fluorescent *Bacillus cereus*



c.) Morfologi bakteri pengecatan Schaeffer and Fulton



d.) Morfologi bakteri pengecatan **Klien**

Gambar 1. Morfologi bakteri *Bacillus cereus* a.) Pengecatan gram; b.) Pengecatan fluorescent; c.) Pengecatan spora metode Schaeffer and Fulton; d.) Pengecatan spora metode **Klien**

4. Simpulan dan Saran

Simpulan

Pengecatan spora merupakan pengecatan yang khusus digunakan untuk mengamati bakteri pembentuk spora dengan prinsip menggunakan 2 pewarna yang akan memberikan kontras yang jelas antara spora, badan bakteri dengan latar belakang pengamatan pada penelitian ini yang memberikan hasil yang baik adalah pengecatan fluorescent akan tetapi memerlukan fasilitas pendukung yang lebih mahal sedangkan alternatif yang lebih murah adalah metode Schaeffer and Fulton.

Saran

Kualitas pengecatan perlu dilakukan peningkatan dan penelusuran metode pengecatan yang lebih beragam agar mendapatkan banyak pilihan dalam melaksanakan kegiatan identifikasi bakteri berspora.

5. Daftar Pustaka

- Ehling-Schulz, M., Lereclus, D., and Koehler, T. M. (2019). The *Bacillus cereus* group: *Bacillus* species with pathogenic potential. *Microbiology spectrum*, 7(3), 7-3.
- Tuipulotu, D. E., Mathur, A., Ngo, C., & Man, S. M. (2021). *Bacillus cereus*: epidemiology, virulence factors, and host-pathogen interactions. *Trends in Microbiology*, 29(5), 458-471.
- Ehling-Schulz, M., Frenzel, E., and Gohar, M. (2015). Food-bacteria interplay: pathometabolism of emetic *Bacillus cereus*. *Frontiers in microbiology*, 6, 704.
- Oktari, A., Supriatin, Y., Kamal, M., & Syafrullah, H. (2017, February). The bacterial endospore stain on Schaeffer Fulton using variation of methylene blue solution. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 812, No. 1, p. 012066). IOP Publishing.
- Smith, A. C., & Hussey, M. A. (2005). Gram stain protocols. *American Society for Microbiology*, 1, 14.
- Thairu, Y., Nasir, I. A., and Usman, Y. (2014). Laboratory perspective of gram staining and its significance in investigations of infectious diseases. *Sub-Saharan African Journal of Medicine*, 1(4), 168.
- Gurung, R., Shrestha, R., Poudyal, N., & Bhattacharya, S. K. (2018). Ziehl Neelsen vs. Auramine staining technique for detection of acid fast bacilli. *Journal of BP Koirala Institute of Health Sciences*, 1(1), 59-66.
- Schichnes, D., Nemson, J. A., and Ruzin, S. E. (2006). Fluorescent staining method for bacterial endospores. *MICROSCOPE-LONDON THEN CHICAGO-*, 54(2), 91.
- Driks, A. (1999). *Bacillus subtilis* spore coat. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(1), 1-20.
- Oktari, A., Supriatin, Y., Kamal, M., and Syafrullah, H. (2017). The Bacterial Endospore Stain on Schaeffer Fulton using Variation of Methylene Blue Solution. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 812, No. 1, p. 012066). IOP Publishing.