



Rumah Sakit Pusat Otak Nasional
Prof. Dr. dr. Mahar Mardjono
Jakarta

PEWARNAAN GRAM

No. Dokumen :
OT.02.02/D.XXIII/243/2024

No. Revisi :
01

Halaman :
1/3

STANDAR PROSEDUR OPERASIONAL

Tanggal Terbit :
23 Januari 2024

Ditetapkan :
Direktur Utama RSPON Prof. Dr. dr. Mahar
Mardjono Jakarta



dr. ADIN NULKHASANAH, Sp.S., MARS

PENGERTIAN

Prosedur pewarnaan untuk mengklasifikasikan bakteri berdasarkan dinding selnya dibagi menjadi dua kelompok berbeda, yaitu bakteri Gram positif (berwarna ungu) dan Gram negatif (berwarna merah).

TUJUAN

Untuk membedakan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif

KEBIJAKAN

Keputusan Direktur Utama RSPON Prof Dr dr Mahar Mardjono Jakarta Nomor HK.02.03/XXXIX/9102/2022 tentang Pedoman Pelayanan Instalasi Laboratorium dan Bank Darah

PROSEDUR

- A. Alat dan bahan, terdiri dari:
 1. *Object glass*
 2. Pipet tetes
 3. Mikroskop
 4. *Stopwatch*
 5. *Oil imersi*
 6. Lampu bunsen
 7. Korek api
 8. Rak pengecatan
- B. Spesimen
 1. Jenis spesimen : cairan otak, sputum, swab dasar luka, pus, bilasan bronkus, dan koloni dari media kultur
 2. Wadah : penampung yang kering dan bersih
- C. Reagen
 1. Reagen 1 larutan kristal violet
 2. Reagen 2 larutan lugol
 3. Reagen 3 larutan dekolorisasi
 4. Reagen 4 larutan safranin
- D. Persiapan Pranata Laboratorium Kesehatan
 1. Prosedur cuci tangan
 2. Menggunakan alat pelindung diri (APD)
- E. Prosedur Pembuatan Preparat
 1. Spesimen (sputum, pus, swab dasar luka, bilasan bronkus) dibuat sediaan preparat dengan cara melingkar diameter 2-3 cm.



Rumah Sakit Pusat Otak Nasional
Prof. Dr. dr. Mahar Mardjono
Jakarta

PEWARNAAN GRAM

No. Dokumen :
OT.02.02/D.XXIII/243/2024

No. Revisi :
1

Halaman :
2/3

PROSEDUR

2. Koloni dari media kultur dibuat sediaan dengan cara menambahkan 1 tetes NaCl steril pada *object glass* lalu diambil 1 koloni dari media kultur yang berumur 18-24 jam, dihomogenkan, lalu dibuat melingkar diameter 2-3 cm.
3. Untuk spesimen cairan otak, dibuat sediaan dengan cara yang sama untuk hitung jenis sel pada cairan otak.
4. Setelah kering, sediaan difiksasi dengan melewati sediaan di atas nyala api sebanyak 3 kali dan biarkan dingin.

F. Prosedur Pewarnaan

1. Preparat digenangi dengan kristal violet selama 1 menit, dihitung menggunakan *stopwatch*. Setelah 1 menit, dibilas dengan air mengalir.
2. Preparat selanjutnya digenangi lugol selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir.
3. Preparat digenangi dengan larutan dekolorisasi (alkohol 70% atau aseton alkohol) tunggu selama 10 detik, lalu dibilas dengan air mengalir.
4. Preparat digenangi dengan safranin selama 30-60 detik, kemudian dibilas dengan air mengalir.
5. Preparat dibiarkan kering di udara.
6. Preparat diperiksa di bawah mikroskop dengan *oil imersi* dengan pembesaran 100x, dilihat adanya bakteri Gram positif dan Gram negatif.
7. Interpretasi hasil:

Bakteri Gram positif	Berwarna ungu
Bakteri Gram negatif	Berwarna merah
8. Hasil dicatat di buku kerja dan input ke komputer
9. Otorisasi hasil dilakukan dokter penanggung jawab laboratorium harian (DPJLH).

G. Quality Control

1. Membuat sediaan dengan bakteri kontrol Gram positif dan Gram negatif, masing-masing dibuat sediaan melingkar dalam 1 *object glass*, setelah kering kemudian diwarnai sesuai prosedur pewarnaan Gram. Lalu preparat diperiksa di bawah mikroskop dengan *oil imersi* dan pembesaran 100x.
2. Apabila interpretasi hasil sudah sesuai bakteri Gram positif berwarna ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah, maka pewarna Gram dalam kondisi baik

UNIT TERKAIT

Instalasi Laboratorium dan Bank Darah



Rumah Sakit Pusat Otak Nasional
Prof. Dr. dr. Mahar Mardjono
Jakarta

PEWARNAAN GRAM

No. Dokumen :
OT.02.02/D.XXIII/243/2024

No. Revisi :
1

Halaman :
3/3

ALUR PEWARNAAN GRAM

