

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Laboratorium klinik merupakan bagian dalam pelayanan kesehatan yang hasil pemeriksaan laboratorium klinik digunakan untuk penetapan diagnosa, pemberian pengobatan dan pemantauan hasil pengobatan. Penyelenggaraan laboratorium klinik yang baik mengedepankan pelaksanaan kegiatan dalam meningkatkan dan memantapkan mutu hasil pemeriksaan laboratorium. Oleh karena itu, hasil pemeriksaan laboratorium harus selalu terjamin mutunya (Permenkes RI Nomer 43 Tahun 2013).

Pemantapan mutu (*quality assurance*) laboratorium adalah serangkaian kegiatan atau tindakan untuk menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan laboratorium. Menurut Permenkes RI Nomer 37 Tahun 2012, kegiatan pemantapan mutu dibagi menjadi dua, yaitu Pemantapan Mutu Internal (PMI) dan Pemantapan Mutu Eksternal (PME) (Permenkes RI Nomer 37 Tahun 2012).

Pemantapan Mutu Internal (PMI) merupakan pemantauan dan pengendalian mutu hasil pemeriksaan yang dilaksanakan oleh laboratorium sendiri secara berkesinambungan untuk menjamin kualitas hasil pemeriksaan. Aktivitas pemantapan mutu internal laboratorium terdiri dari tahap pra analitik, analitik dan pasca analitik. Tahapan kegiatan pra analitik meliputi persiapan pasien, pemberian identitas pasien, pengambilan spesimen, penanganan spesimen, pengolahan dan penyimpanan spesimen.

Tahapan kegiatan analitik meliputi pengolahan dan pemeriksaan spesimen, pemeliharaan dan kalibrasi alat, uji kualitas reagen, uji ketelitian dan ketepatan. Tahapan kegiatan pasca analitik meliputi pencatatan hasil, ineterpretasi hasil dan pelaporan hasil pemeriksaan (Siregar *et al.* , 2018).

Laboratorium bakteriologi merupakan bagian dari laboratorium klinik yang wajib melaksanakan pemantapan mutu internal. Pemantapan mutu internal laboratorium bakteriologi meliputi isolasi uji kualitas media, uji kualitas pewarna, uji sensitivitas antibiotik, strain standar dan uji kualitas peralatan (Siregar *et al.*, 2018). Pada pelaksanaan pemantapan mutu bakteriologi dibutuhkan bahan kontrol dari kultur standar. Kultur standar yang dapat digunakan dalam pemantapan mutu antara lain, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, dimana untuk mempertahankan kemurnian kultur bakteri diperlukan pemeliharaan dengan metode peremajaan secara berkala (WHO, 2012). Laboratorium bakteriologi jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Yogyakarta, salah satu laboratorium bakteriologi yang menggunakan metode peremajaan berkala untuk mempertahankan koleksi isolate bakteri.

Peremajaan berkala salah satu teknik tradisional untuk memelihara koleksi isolate bakteri pada laboratorium. Peremajaan berkala disebut juga penyimpanan jangka pendek dengan memindahan atau memperbarui biakan mikroba dari biakan lama ke biakan baru secara berkala, misal sebulan sekali (Machmud, 2001). Teknik ini membutuhkan waktu dan tenaga yang

banyak serta memiliki beberapa kendala yaitu beresiko terkontaminasi, mengalami perubahan genetik dan kesalahan pelabelan (Ida, Sariono dan Putra, 2022). Akibat dari kendala peremajaan berkala, harus melakukan isolasi dan identifikasi ulang untuk memperoleh kultur standar bakteri yang murni. Hal ini mengakibatkan penambahan biaya dan waktu pada pelaksanaan kontrol kualitas bakteriologi. Oleh karena itu, diperlukan penyimpanan dan pemeliharaan yang dapat memelihara stabilitas bakteri.

Metode kering beku (*Freeze dry*) atau liofilisasi salah satu teknik populer penyimpanan jangka panjang menggunakan suhu rendah. Metode ini menggabungkan dua metode yaitu pengeringan dan pembekuan. Metode kering beku adalah metode yang banyak disukai karena memiliki keunggulan, antara lain kemudahan transportasi dan penggunaan mikroorganisme yang diolah, biaya penyimpanan yang rendah dan tingkat kelangsungan hidup sel yang tinggi dalam jangka waktu yang lama (Jałowiecki *et al.*, 2020). Akan tetapi, metode ini memiliki kekurangan, antara lain biaya teknik yang mahal, mudah terbentuk kristal es, denaturasi protein sel dan perubahan pH (Emami *et al.*, 2018).

Proses metode kering beku atau liofilisasi dibutuhkan bahan tambahan untuk menjaga stabilitas dari bakteri. Lioprotektan (*Lyoprotectant*) merupakan bahan tambahan yang digunakan untuk menjaga mikroba selama proses liofilisasi (Puspawati, Nuraida dan Adawiyah, 2010). Lioprotektan berfungsi menjaga kestabilan sel, mengatasi denaturasi protein (Emmai *et al.*, 2018), mengurangi terbentuknya kristal es

pada sel (Rachmat dan Shovitri, 2021). Beberapa macam lioprotektan meliputi, *skim milk*, *Bovine Serum Albumin (BSA) Fraction V*, sukrose, dan trehalose (Emami *et al.*, 2018).

*Bovien Serum Albumin (BSA)* merupakan komponen protein yang banyak digunakan sebagai formula pada lioprotektan (Imamura *et al.*, 2003). Serum Albumin (SA) merupakan protein yang banyak ditemukan pada mamalia dengan jumlah yang melimpah, seperti pada sapi, kuda dan kelinci (Majorek *et al.*, 2012). Serum kuda mengandung albumin dan protein total dengan rata – rata albumin 2,85 g/dL dan protein total 6,75 g/dL (Souza *et al.*, 2019). Menurut (Sanz, Schnider dan Mealey, 2021) kadar albumin pada kuda lebih tinggi dari pada sapi dengan rata – rata albumin kuda 3,8 g/dL dan albumin sapi 3,2 g/dL. Lioprotektan dengan penambahan protein mampu memberikan lapisan perlindungan pada sel selama liofilisasi (Liao, Brown dan Martin, 2004). Sehingga serum kuda dapat digunakan sebagai pengganti *Bovine Serum Albumin (BSA) Fraction V* yang harganya relatif mahal.

Berdasarkan hal tersebut, dilakukan penelitian berjudul “Pengaruh Liofilisasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan Serum Kuda sebagai Lioprotektan yang Disimpan Selama Dua Bulan Pada Suhu 4°C Terhadap Viabilitas, Morfologi dan Biokimia”

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang masalah, maka rumusan masalah penelitian ini adalah “Bagaimana pengaruh liofilisasi bakteri

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan serum kuda sebagai lipoprotektan yang disimpan selama dua bulan pada suhu 4°C terhadap viabilitas, morfologi dan biokimia?”

### **C. Tujuan Penelitian**

#### 1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh liofiliasis bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan serum kuda sebagai lipoprotektan yang disimpan selama dua bulan pada suhu 4°C terhadap viabilitas, morfologi dan biokimia.

#### 2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui viabilitas bakteri liofilisat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebelum dan setelah disimpan dua bulan pada suhu 4°C dengan serum kuda sebagai lioprotektan.
- b. Mengetahui morfologi bakteri liofilisat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebelum dan setelah disimpan dua bulan pada suhu 4°C dengan serum kuda sebagai lioprotektan.
- c. Mengetahui biokimia bakteri liofilisat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebelum dan setelah disimpan dua bulan pada suhu 4°C dengan serum kuda sebagai lioprotektan.

### **D. Ruang Lingkup**

Ruang lingkup penelitian ini adalah bidang Teknologi Laboratorium Medis yang mencakup ilmu Bakteriologi.

## E. Manfaat Penelitian

### 1. Manfaat Teoritis

Memberikan informasi ilmiah penyimpanan metode liofiliasis bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang disimpan selama dua bulan pada suhu 4°C terhadap viabilitas, morfologi dan biokimia.

### 2. Manfaat Praktis

Memberikan praktisi laboratorium bakteriologi dalam pemanfaatan metode kering beku (liofilisasi) dalam penyimpanan bakteri dan sebagai alternatif metode peremajaan barkala.

## F. Keaslian Penelitian

1. Penelitian Rohit Sharma, dkk. (2014) yang berjudul “*Standardization of Lyophilization Medium for Streptococcus thermophilus Subjected to Viability Escalation on Freeze Drying*”. Kesimpulan dari penelitian ini adalah kombinasi natrium kaseinat, susu skim, sukrosa dan mono natrium glutamat yang diuji pada *Streptococcus thermophilus* NCIM 2904 sebagai lioprotektan menghasilkan viabilitas yang lebih tinggi pada pengeringan beku (*Freezer drying*). Persamaan dengan penelitian ini adalah metode kering beku. Perbedaan pada penelitian ini adalah jenis bakteri yang digunakan.
2. Penelitian Iversen, dkk. (2022) yang berjudul “*Successful Direct Whole Genome Sequencing and Revivification of Freeze-Dried Nontuberculous Mycobacteria after More than Half a Century of Storage*”. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pengeringan beku isolat

mikobakteri merupakan metode yang layak untuk penyimpanan jangka panjang karena mempertahankan kualitas dan sifat bakteri yang bertahan setelah 72 tahun penyimpanan pada suhu 10°C. Pengeringan beku ini mengurangi potensi kontaminasi silang di laboratorium dan melestarikan informasi genetik asli. Persamaan dengan penelitian ini adalah pengeringan beku. Perbedaan pada penelitian ini adalah jenis bakteri yang digunakan dan suhu penyimpanan.

3. Penelitian Melpin, dkk. (2015) yang berjudul “Stabilisasi Aktivitas Lisozim Dalam Sediaan Serbuk Beku Kering Pada Serum Otologus Menggunakan Lioprotektan Sukrosa”. Kesimpulan dari penelitian ini adalah liofilisasi serum otologus selama enam bulan pada penyimpanan 4°C, menjaga lisozim lebih baik dibandingkan tanpa penambahan sukrosa. Penambahan konsentrasi sukrosa pada lioprotektan menunjukkan potensi terbaik menjaga protein selama proses liofilisasi dan selama penyimpanan. Persamaan dengan penelitian ini adalah metode penyimpanan kering beku dan disimpan pada suhu 4°C. Perbedaan pada penelitian ini adalah variasi waktu 30 hari.
4. Penelitian Suherman, Denisa Putri (2022) yang berjudul “Uji Viabilitas Dan Pengamatan Morfologi Liofilisat Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Yang Disimpan Selama Dua Bulan Pada Suhu -20°C”. Kesimpulan dari penelitian ini adalah rerata ALT liofilisat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebelum disimpan adalah  $9,2 \times 10^5$  CFU/ml. Sedangkan rerata ALT liofilisat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* setelah disimpan

adalah  $7,2 \times 10^5$  CFU/ml. Didapatkan selisih rerata ALT liofilisat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebelum dan setelah disimpan sebesar  $1,28 \times 10^0$  CFU/ml atau log 0. Viabilitas liofilisat bakteri masih dikatakan baik karena tidak terjadi penurunan jumlah bakteri lebih dari log 2 setelah dilakukan penyimpanan. Hasil pengamatan liofilisat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia menunjukkan karakteristik yang sama dengan kultur murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Persamaan dengan penelitian ini adalah metode kering beku. Perbedaan dengan penelitian ini adalah jenis bakteri dan suhu yang digunakan.