

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Laboratorium klinik adalah laboratorium kesehatan yang melaksanakan pelayanan pemeriksaan spesimen klinik untuk mendapatkan informasi tentang kesehatan perorangan terutama untuk menunjang upaya diagnosis penyakit, penyembuhan penyakit dan pemulihan kesehatan. Laboratorium klinik mempunyai kewajiban untuk melaksanakan pemantapan mutu guna mengevaluasi suatu aspek teknis pengujian sehingga menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan di laboratorium (Permenkes RI No.411, 2010). Hasil uji analisis laboratorium dianggap bermutu tinggi jika dapat memuaskan pasien dengan tetap mempertimbangkan nilai teknis untuk mencapai ketepatan dan ketelitian (Ramadhani, 2020).

Pemantapan mutu dibagi menjadi dua bagian, yaitu pemantapan mutu internal dan pemantapan mutu eksternal. Pemantapan mutu internal adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh masing-masing laboratorium secara terus menerus agar tidak terjadi atau mengurangi penyimpangan sehingga diperoleh hasil yang tepat.

Terdapat tiga tahap pemantapan mutu internal (PMI) yang dilakukan laboratorium, yaitu tahap pra analitik, tahap analitik dan tahap pasca analitik. Kegiatan PMI (Pemantapan Mutu Internal) mikrobiologi terdiri dari pemantapan mutu alat, pengendalian mutu reagensia, media, uji sensitivitas antibiotik dan kultur

standar (Siregar, et al., 2018). Kultur standar bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat digunakan untuk mengetahui kualitas media Mueller Hinton Agar yang dalam pemeliharaannya dapat dilakukan dengan metode peremajaan berkala dengan inokulasi pada media *blood agar plate*.

Teknik peremajaan berkala dengan inokulasi berulang dapat berisiko kontaminasi. Untuk memperoleh kultur murni harus melakukan identifikasi ulang sehingga membutuhkan waktu dan biaya lebih. Teknik lain yang dapat dilakukan untuk pengawetan kultur yaitu teknik jangka panjang dengan cara menyimpan secara kering beku (*freeze drying*). Teknik kering beku (*freeze drying*) disebut juga liofilisasi (*lyophilization*), merupakan teknik penyimpanan dengan menambahkan lioprotektan sebagai bahan pelindung (Puspawati, et al., 2010).

Liofilisasi atau *freeze drying* adalah suatu teknik pengeringan beku yang dilakukan secara cepat melalui sublimasi dalam kondisi vakum. Bakteri kering ini mudah ditransportasikan dan dapat dihidupkan kembali. Namun teknik ini memiliki beberapa kekurangan, antara lain biaya yang mahal dan dapat menyebabkan kerusakan struktur protein sel (Rachmat & Shovitri, 2022)

Teknik liofilisasi memerlukan suatu bahan yang disebut lioprotektan sehingga bakteri dapat bertahan lama. Lioprotektan mampu melindungi sel dari berbagai stress (pembekuan, dehidrasi dan stress mekanik) yang terjadi pada proses *freeze drying*. Lioprotektan melindungi protein selama liofilisasi dengan membentuk ikatan hidrogen dengan bagian polar yang terdapat pada permukaan sel di akhir tahap pengeringan. Lioprotektan dalam bentuk terkonsentrat dan beku akan membentuk lapisan kaca pada temperatur gelas (Emami, et al., 2018).

Salah satu lioprotektan yang sering digunakan adalah larutan campuran serum kuda dengan pepton 10% (Machmud, 2001). Konsentrasi plasma albumin pada serum kuda juga lebih tinggi daripada sapi (Sanz, et al., 2021). *Bovin Serum Albumin* (BSA) biasanya dipakai untuk agen lioprotektan namun harganya relatif mahal. Oleh sebab itu, serum kuda digunakan untuk menggantikan BSA karena harganya yang lebih murah dan konsentrasi plasma albuminnya lebih tinggi.

Laboratorium bakteriologi Poltekkes Kemenkes Yogyakarta Jurusan Teknologi Laboratorium Medis masih menggunakan inokulasi berulang untuk menyimpan bakteri. Metode inokulasi berulang memiliki beberapa kekurangan antara lain kemungkinan terkontaminasi mikroba lain, kemungkinan terjadinya mutasi dan boros media. Berdasarkan masalah tersebut, peneliti bermaksud melakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Liofilisasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan Serum Kuda Sebagai Lioprotektan yang Disimpan Selama Dua Bulan Pada Suhu Ruang terhadap Viabilitas, Morfologi dan Biokimia”

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas, Adapun perumusan masalah adalah bagaimanakah pengaruh liofilisasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan serum kuda sebagai lioprotektan yang disimpan selama dua bulan pada suhu ruang terhadap viabilitas, morfologi dan biokimia.

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Tujuan umum penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penyimpanan metode liofilisasi terhadap angka lempeng total (viabilitas), morfologi

dan biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan serum kuda sebagai lioprotektan yang disimpan selama dua bulan pada suhu ruang.

2. Tujuan khusus

- a. Diketuainya angka lempeng total (viabilitas) liofilisat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- b. Diketuainya hasil uji biokimia liofilisat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- c. Diketuainya morfologi liofilisat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini adalah bidang Teknologi Laboratorium Medis mencakup ilmu bakteriologi khususnya berkaitan dengan pengaruh metode kering beku terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan serum kuda sebagai lioprotektan yang disimpan selama dua bulan pada suhu ruang.

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Memberikan informasi secara ilmiah tentang pengaruh metode liofilisasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan serum kuda sebagai lioprotektan yang disimpan selama dua bulan pada suhu ruang.

2. Manfaat praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi praktisi laboratorium dalam melakukan penyimpanan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode liofilisasi.

F. Keaslian Penelitian

1. Penelitian Chotiah (2006) yang berjudul “Pengaruh Proses *Freeze Drying* dan penyimpanan pada Suhu Kamar terhadap Viabilitas dan Patogenitas Plasma Nutfah Mikroba *Pasteurella multocida*”. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa metode *freeze drying* menggunakan medium preservan 7.5% glukosa serum kuda yang dipakai dalam konservasi plasma nutfah mikroba veteriner *P. mullocida* nomor BBC B2331 dapat menurunkan viabilitas dan patogenitas, baik selama proses maupun setelah penyimpanan pada suhu kamar $\pm 27^{\circ}\text{C}$. Persamaan dalam penelitian tersebut yaitu metode penyimpanan bakteri yang menggunakan metode kering beku dan disimpan pada suhu ruang. Perbedaan dengan penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti adalah sampel bakteri yang digunakan, dimana pada penelitian Siti Chotiah menggunakan *Pasteurella multocida* sedangkan pada penelitian ini menggunakan *Staphylococcus aureus*.
2. Penelitian Dewi (2009) yang berjudul “Ketahanan Hidup Sel *Acetobacter xylinum* pada Pengawetan secara Kering-Beku Menggunakan Medium Pembawa”. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah sel hidup tertinggi yang dapat dicapai pada

proses pengeringan kultur *A. xylinum* secara *freeze drying* menggunakan medium pembawa sukrosa dan laktosa adalah $28,2 \times 10^6$ sel/ml bahan hasil rehidrasi menggunakan medium Schramm & Herstin, dan medium pembawa yang dapat melindungi sel *A. xylinum* lebih baik selama proses *freeze drying* adalah sukrosa dengan konsentrasi 15%. Persamaan dalam penelitian tersebut adalah metode penyimpanan bakteri secara kering beku. Perbedaannya dengan penelitian yang akan dilakukan peneliti adalah sampel bakteri yang digunakan dan medium yang digunakan. Jika pada penelitian tersebut menggunakan *A. xylinum* sebagai sampel dan medium Schramm & Herstin untuk pengujiannya, penelitian yang akan dilakukan peneliti menggunakan *Staphylococcus aureus* sebagai sampel bakteri dan disuburkan pada media *brain heart infusion*.

3. Penelitian Merabishvili, dkk (2013) yang berjudul “*Stability of Staphylococcus aureus Phage ISP after Freeze-Drying (Lyophilization)*”. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa sukrosa dan trehalosa terbukti menjadi stabilisator yang cukup efektif untuk liofilisasi dan pengawetan ISP bakteriofag jangka panjang. Konsentrasi yang paling efisien untuk stabilisator ini dalam penelitian ini adalah 0,8 dan 1,0 M dengan kehilangan maksimal 0,6 log₁₀s setelah prosedur liofilisasi dan stabilitas stabil selama periode penyimpanan 27 bulan. Persamaan pada penelitian tersebut adalah sama-sama menguji stabilitas *Staphylococcus Aureus* setelah dikering

bekukan. Namun perbedaannya pada penelitian tersebut menggunakan sukrosa dan trehalose sebagai lioprotektan, sedangkan penelitian yang akan dilakukan peneliti akan menggunakan serum kuda sebagai lioprotektannya.