

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

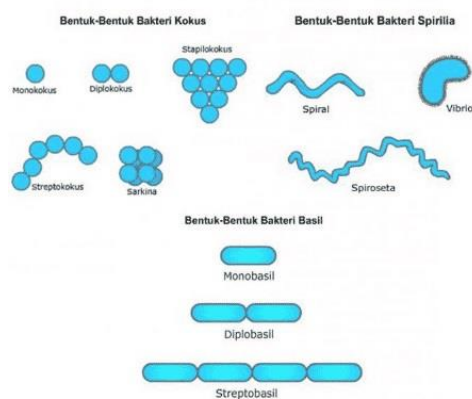
1. Bakteri

Bakteri adalah mikroba prokariotik yang uniseluler, ukuran sel-sel hanya beberapa mikron. Bakteri sangat bervariasi tergantung masing-masing spesiesnya sehingga tidak dapat dilihat dengan mata telanjang dan berkembang biak dengan cara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri hidup secara bebas, parasit, saprofit, sebagai patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Walaupun bentuknya bermacam-macam, tetapi pada dasarnya strukturnya terdiri atas dinding sel, membran sitoplasma, sitoplasma, serta inti sel (Riskawati, 2016).

Berdasarkan perbedaannya didalam menyerap zat warna Gram, bakteri dibagi atas dua golongan yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif berwarna ungu karena kompleks kristal violet-iodin tetap dipertahankan. Sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah karena kompleks warna kristal violet-iodin larut oleh alkohol, lalu menyerap zat warna kedua yaitu safranin. Perbedaan hasil dalam pewarnaan tersebut disebabkan perbedaan struktur, terutama dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut (Sari, 2014).

a. Bentuk Bakteri

Berdasarkan bentuknya, bakteri dibedakan menjadi tiga yaitu sferis (kokus), batang (basil) dan spiral yang dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 1. Bentuk-Bentuk Bakteri
(Sumber: Fadiei, 2017)

1) Sferis (kokus)

Bakteri dengan bentuk sferis atau bulat disebut kokus (*coccus*) yang ditemukan pada genus *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, dan lain-lain. Bakteri berbentuk kokus ini terbagi atas:

- a) Monokokus, yaitu bakteri berbentuk bulat tunggal, misalnya *Neisseria gonorrhoeae* penyebab penyakit kencing nanah
- b) Diplokokus, yaitu bakteri berbentuk bulat bergandengan dua-dua, misalnya *Diplococcus pneumoniae* penyebab penyakit pneumonia atau radang paru-paru
- c) Sarkina, yaitu bakteri berbentuk bulat yang berkelompok empat-empat sehingga bentuknya seperti kubus

- d) Streptokokus, yaitu bakteri berbentuk bulat yang berkelompok memanjang membentuk rantai
- e) Stafilocokus, yaitu bakteri berbentuk bulat yang berkoloni membentuk sekelompok sel tidak teratur, bentuknya mirip sekumpulan anggur (Irianto, 2014).

2) Batang (basil)

Bakteri yang berbentuk batang atau silinder dinamakan basil, dapat dijumpai pada famili Enterobacteriaceae seperti *Escherechia coli*, *Salmonela typhi*, *Klebsiella pneumoniae* maupun famili Bacillaceae seperti genus *Clostridium* dan genus *Bacillus*. Bakteri basil terbagi atas:

- a) Basil tunggal, yaitu bakteri berbentuk satu batang tunggal, misalnya *Salmonella typhi* penyebab penyakit tifus
- b) Diplobasil, yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan dua-dua
- c) Streptobasil, yaitu bakteri berbentuk basil yang bergandengan memanjang membentuk rantai, misalnya *Bacillus anthracis* penyebab penyakit antraks (Irianto, 2014).

3) Spiral

Bakteri berbentuk melilit seperti spiral terbagi atas:

- a) Spiral, yaitu golongan bakteri berbentuk spiral misalnya *Spirillum sp*, umumnya memiliki sel tubuh yang kaku

- b) *Vibrio*, yaitu bakteri berbentuk koma yang dianggap sebagai bentuk spiral tak sempurna, misalnya *Vibrio cholerae* penyebab penyakit kolera
- c) *Spirochaeta*, yaitu bakteri berbentuk spiral yang lentur dan tubuhnya dapat memanjang dan mengerut saat bergerak, misalnya *Treponema pallidum* (Irianto, 2014).

b. Syarat Pertumbuhan Bakteri

Mikroorganisme membutuhkan nutrien-nutrien dasar dan faktor-faktor fisik tertentu untuk bertahan hidup. Nutrien dalam media harus mengandung seluruh elemen penting untuk sintesis biologik organisme (Brooks, 2005). Berbagai macam media yang ada di laboratorium menyediakan kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan sel-sel mikroba.

1) Karbon

Karbon merupakan nutrisi paling penting yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri dan sebagai atom pusat untuk semua struktur dan fungsi seluler (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Nitrogen

Nitrogen merupakan atom penting dalam makromolekul seluler, terutama protein dan asam nukleat (Cappuccino dan Sherman, 2014). Nitrogen diperlukan untuk menyintesis asam amino yang selanjutnya akan digunakan untuk menyintesis protein, DNA dan RNA. Bakteri memperoleh nitrogen dari proses dekomposisi bahan organik atau berasal dari ion ammonium serta

dari senyawa nitrat dan nitrogen yang berada di udara melalui proses fiksasi (FK UNBRAU, 2003).

3) Unsur non-logam

a) Sulfur

Sulfur diperlukan bakteri untuk sintesis protein bersama dengan nitrogen. Sumber sulfur dapat diperoleh dalam bentuk ion sulfat atau berasal dari H_2S yang terdapat di alam. Sulfur juga terdapat dalam asam amino

b) Fosfor

Fosfor dan nitrogen diperlukan untuk pembentukan asam nukleat DNA dan RNA. Fosfor juga dibutuhkan bakteri untuk sintesis ATP. Sumber fosfor diperoleh dari senyawa fosfat (FK UNBRAU, 2003).

4) Unsur logam

Ion logam dibutuhkan bakteri agar proses aktivitas seluler dapat berjalan secara efisien. Aktivitas seluler yang dimaksud adalah osmoregulasi, pengaturan aktivitas enzim dan transport elektron selama oksidasi hayati. Ion-ion Ca^{++} , Zn^{++} , Na^+ , K^+ , Cu^{++} , Mn^{++} , Mg^{++} , Fe^{+2} dan Fe^{+3} hanya dibutuhkan dalam konsentrasi sedikit. Unsur logam tersebut dapat diperoleh dari garam-garam anorganik (Cappuccino dan Sherman, 2014).

5) Vitamin

Vitamin berperan untuk pertumbuhan seluler serta penting untuk aktivitas sel. Vitamin merupakan sumber koenzim dalam pembentukan sistem enzim aktif. Vitamin juga hanya diperlukan dalam jumlah sedikit (Cappuccino dan Sherman, 2014).

6) Air

Air yang berada di dalam media diperlukan oleh sel-sel untuk membantu nutrien-nutrien dengan bobot molekul rendah melintasi membran sel atau sebagai pelarut dan alat pengangkut dalam metabolisme (Cappuccino dan Sherman, 2014).

7) Energi

Energi berperan penting dalam aktivitas metabolik kehidupan seluler, seperti transport aktif, biosintesis dan biodegradasi makromolekul. Aktivitas tersebut membutuhkan energi yang konstan agar tetap dapat berlangsung.

c. Kondisi Fisik yang Diperlukan untuk Pertumbuhan Bakteri

1) Nutrisi

Sumber zat makanan (nutrisi) bagi bakteri diperoleh dari senyawa karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, unsur logam, vitamin dan air untuk fungsi-fungsi metabolik dan pertumbuhannya.

2) Suhu

Suhu merupakan faktor lingkungan yang sangat penting yang dapat mempengaruhi aktivitas organisme. Umumnya, bakteri

tumbuh pada suhu di atas 35°C. Namun, setiap spesies bakteri memiliki suhu optimum untuk pertumbuhan (Hafsan, 2011). Berdasarkan suhu yang diperlukan untuk tumbuh, bakteri dibagi menjadi 3 golongan sebagai berikut:

- a) Psikrofil (*cold loving bacteria*), yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara 0-20°C misalnya golongan mikroba laut
- b) Mesofil (*moderate temperature loving bacteria*), yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara 25-40°C dengan suhu optimal 37°C misalnya golongan bakteri patogen yang menyebabkan penyakit pada manusia
- c) Termofil (*heat loving bacteria*), yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara 50-60°C (FK UNBRAW, 2003).

3) pH

Bakteri membutuhkan pH optimal untuk pertumbuhannya. Umumnya, pH optimal bakteri antara 6,5-7,5 atau pada pH netral. Namun, beberapa spesies dapat tumbuh dalam keadaan sangat asam atau sangat alkali. Bagi kebanyakan spesies, nilai pH minimum dan maksimum ialah antara 4 dan 9. Untuk mempertahankan pH tetap konstan, maka dapat ditambahkan larutan penyangga (garam dari fosfat atau garam dari asetat) pada media (Hafsan, 2011).

4) Oksigen

Bakteri dibedakan menjadi beberapa golongan berdasarkan kebutuhan oksigen bagi pertumbuhannya, antara lain:

- a) Bakteri aerob mutlak, yaitu bakteri yang untuk pertumbuhannya memerlukan adanya oksigen
- b) Bakteri anaerob fakultatif, yaitu bakteri yang dapat tumbuh, baik ada oksigen maupun tanpa adanya oksigen
- c) Bakteri anaerob aerotoleran, yaitu bakteri yang tidak mati dengan adanya oksigen
- d) Bakteri anaerob mutlak, yaitu bakteri yang hidup bila tidak ada oksigen
- e) Bakteri mikroaerofilik, yaitu bakteri yang kebutuhan oksigennya rendah (FK UNBRAW, 2003).

5) Kadar Air

Bakteri sebenarnya merupakan mikroorganisme yang suka akan keadaan basah, bahkan dapat hidup didalam air, tetapi tidak dapat hidup subur di dalam air yang tertutup. Hal ini disebabkan karena kurangnya udara. Tanah yang basah baik untuk kehidupan bakteri. Sebaliknya, banyak bakteri yang mati jika terkena udara kering.

6) Tekanan Osmotik

Air merupakan bahan yang amat penting bagi pertumbuhan bakteri karena 80%-90% bakteri tersusun atas air. Tekanan

osmosis sangat diperlukan untuk mempertahankan bakteri agar tetap hidup. Apabila bakteri berada dalam larutan yang konsentrasinya lebih tinggi daripada konsentrasi yang ada dalam sel bakteri, maka akan terjadi keluarnya cairan dari sel bakteri melalui membran sitoplasma yang disebut plasmolisis (FK UNBRAW, 2003). Medium yang paling cocok untuk kehidupan bakteri ialah medium yang isotonik terhadap sel bakteri. Namun, ada beberapa bakteri yang membutuhkan tekanan osmotik yang tinggi disebut osmofilik (Brooks, 2005).

d. Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan merupakan proses bertambahnya ukuran atau substansi atau massa zat suatu organisme. Pada organisme prokariot seperti bakteri, pertumbuhan merupakan penambahan volume dan ukuran sel serta penambahan jumlah sel. Fase pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi 4 fase, yaitu fase lag (fase lamban), fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian.

1) Fase Lag

Fase lag (poin a pada gambar 2.) merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi tergantung pada komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme pada media sebelumnya. Fase ini ditandai dengan peningkatan komponen makromolekul dan aktivitas metabolik

2) Fase Eksponensial

Fase eksponensial (poin b pada gambar 2.) ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang sangat cepat. Derajat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh kadar nutrisi dalam media, suhu inkubasi, kondisi pH dan aerasi. Komposisi sel bakteri dan bahan metabolitnya relatif konstan untuk jangka waktu tertentu. Hal ini tergantung dari sifat-sifat alamiah bakteri seperti genetika dan lingkungannya

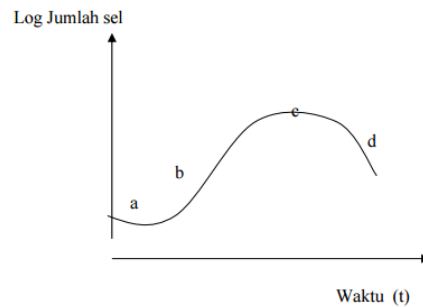
3) Fase Stasioner

Fase stasioner (poin c pada gambar 2.) disebut juga fase statis adalah fase dimana laju pertumbuhan dan perkembangan bakteri mencapai titik terendah atau boleh dikatakan nol sehingga jumlah bakteri keseluruhan akan tetap

4) Fase Penurunan

Fase penurunan (poin d pada gambar 2.) disebut juga fase kematian ditandai dengan terjadinya peningkatan laju kematian sel bakteri sehingga terjadi penurunan populasi bakteri. Laju pertumbuhan bakteri menjadi negatif (Yulianti, 2019).

Pertumbuhan sel bakteri dapat ditunjukkan dalam bentuk kurva sebagai berikut:



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri
(Sumber: Yulianti, 2019)

2. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

a. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada uraian di bawah ini:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Soedarto, 2015)

b. Deskripsi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang bersifat invasif dan toksigenik. Bakteri ini menyebabkan infeksi pada manusia

dengan penurunan imunitas dan merupakan patogen nosokomial (Soedarto, 2015).

c. Morfologi dan Sifat

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri Gram negatif, berbentuk batang dan terlihat sebagai bentuk tunggal, berpasangan dan terkadang dalam rantai pendek, berukuran lebar 0,5-0,8 mikron dan panjang 1,5-3,0 mikron, bergerak aktif dengan satu flagel kutub (*single polar flagellum*), tidak memiliki spora, dapat tumbuh pada suhu 37-42°C dan bila dibiakkan pada medium *blood agar* akan menunjukkan hemolisis beta, serta bersifat oksidase positif. *Pseudomonas aeruginosa* bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif karena dapat menggunakan Arginin dan Nitrat (NO₃) sebagai penerima elektron pernapasan (*respiratory electron acceptor*) (Soedarto, 2015).

Tipe koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* beragam berdasarkan asalnya yaitu koloni yang kecil dan kasar berasal dari isolat alami dari tanah atau air, koloni besar dan halus dengan tepi datar berasal dari bahan klinik dan koloni halus, berlendir (mukoid) berasal dari sekresi saluran napas dan saluran kemih (Soedarto, 2015). Bentuk koloni yang beragam menunjukkan perbedaan aktivitas biokimia dan enzimatik serta kepekaan terhadap antimikroba (Brooks dkk, 2005).

Bentuk mikroskopik *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 3. Bentuk mikroskopik *Pseudomonas aeruginosa*
(Sumber: Todar, 2012)

d. Pertumbuhan dan Pembiakan

Pseudomonas aeruginosa tumbuh dengan cepat pada berbagai jenis media pembiakan, tidak meragikan laktosa, terkadang memproduksi bau manis seperti anggur. Penelitian tingkat laboratorium dapat menggunakan medium paling sederhana untuk pertumbuhannya yang terdiri dari asam asetat (sumber karbon) dan ammonium sulfat (sumber nitrogen) (Todar, 2012). Pada medium *Mac Conkey* membentuk koloni yang jernih. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan pigmen khas *pyocyanin* (biru-hijau) yang larut dalam agar dan didistribusikan ke dalam media perbenihan. Namun, tidak semua *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan *pyocyanin*, beberapa menghasilkan *pyoverdine* (kuning-hijau dan berfluoresensi) dan *pyorubin* (merah-coklat) (Soedarto, 2015). *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 42°C yang membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain pada kelompok floeresens (Brooks dkk, 2005).

e. Patogenitas

Pseudomonas aeruginosa bersifat patogen bila masuk ke daerah dengan fungsi pertahanan abnormal, misalnya di selaput lendir dan kulit yang robek akibat kerusakan jaringan pada pemakaian kateter intravena atau pada neutropenia seperti kemoterapi kanker. Bakteri menempel dan mengkoloni pada selaput mukosa atau kulit, menginvasi secara lokal dan menimbulkan penyakit sistemik (Brooks dkk, 2005).

Pseudomonas aeruginosa memiliki *slime layer* yang bersifat antigenik sehingga mempersulit proses fagositosis. Selain itu, Kebanyakan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan faktor virulensi eksotoksin A yang dapat menyebabkan nekrosis dan terhambatnya sintesis protein serta menggunakan eksoenzim (ExoU) untuk merusak membran plasma eukariotik sehingga menyebabkan terjadinya lisis (Soedarto, 2015).

Pseudomonas aeruginosa tahan terhadap konsentrasi yang tinggi dari garam dan zat warna, antiseptik lemah dan berbagai jenis antibiotika sehingga infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* sukar diobati dengan antibiotika yang biasa digunakan (Soedarto, 2015).

3. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Bakteri

Penyimpanan dan pemeliharaan bakteri bertujuan untuk menjaga agar biakan bakteri tetap hidup, ciri-ciri genetiknya tetap stabil dan tidak berubah, serta hemat biaya dan tenaga, mereduksi atau mengurangi laju metabolisme dengan tetap mempertahankan viabilitasnya, memperoleh

biakan dengan pertahanan hidup (*survival*) yang tinggi dengan perubahan ciri-ciri yang minimum. Metode yang digunakan bergantung pada sifat bakteri dan tujuan penyimpanan serta pemeliharaan bakteri. Sifat bakteri dapat dilihat melalui ciri-ciri morfologi, fisiologi, biokimia dan kemampuan bakteri bertahan hidup baik dalam lingkungan alaminya maupun lingkungan buatan (Machmud, 2001). Beberapa teknik penyimpanan dan pemeliharaan sebagai berikut:

a. Peremajaan Berkala

Peremajaan berkala yaitu dengan memindahkan atau memperbarui biakan bakteri dari media lama ke media baru secara berkala dengan rentang waktu yang singkat. Metode ini merupakan cara paling tradisional yang digunakan untuk penyimpanan dan pemeliharaan isolat bakteri di laboratorium. Peremajaan berkala tidak dianjurkan untuk penyimpanan dan pemeliharaan jangka panjang karena kemungkinan terjadinya kontaminasi sehingga harus melakukan identifikasi untuk memperoleh kultur standar bakteri yang murni (Prastowo, 2019).

b. Penyimpanan dalam Akuades Steril

Penyimpanan dalam akuades steril hanya dapat digunakan untuk beberapa bakteri, terutama bakteri Gram negatif dan berbentuk batang, misalnya anggota genus *Pseudomonas*. Metode ini masih kurang efektif karena bakteri yang disimpan berpeluang kontaminasi, tetapi masih

bisa digunakan sebagai alternatif penyimpanan jangka sedang atau sebagai pendamping penyimpanan jangka panjang (Prastowo, 2019).

c. Penyimpanan dalam Minyak Mineral

Metode penyimpanan dalam minyak mineral dilakukan dengan cara menyimpan biakan bakteri dalam tabung dan menutupnya dengan minyak mineral atau parafin cair. Bakteri ditumbuhkan pada tabung berisi medium agar miring atau medium cair (*broth*) yang sesuai, lalu permukaan biakan ditutup dengan minyak mineral steril setinggi 10-20 mm dari permukaan atas medium. Metode ini memiliki kelemahan yaitu kurang praktis untuk ditransportasi dan keberadaan minyak mineral mengakibatkan peremajaan menjadi kotor (Prastowo, 2019).

d. Penyimpanan dalam Tanah Steril

Metode penyimpanan dalam tanah steril terutama diaplikasikan untuk bakteri yang membentuk spora seperti *Bacillus sp* dan *Clostridium sp*. Beberapa keuntungan metode ini yaitu biaya murah, penyimpanan pada suhu ruang, dan stabilitas genetik mikroba dapat dipertahankan (Prastowo, 2019).

e. Penyimpanan dengan Metode Kering Beku atau Liofilisasi

Liofilisasi (*lyophilization*) adalah metode penyimpanan kering beku untuk mengawetkan kultur jangka panjang menggunakan bahan pelindung atau lioprotektan. Penambahan lioprotektan dilakukan sebelum proses liofilisasi untuk meminimalisir kerusakan sel bakteri (Puspawati dkk, 2010). Proses liofilisasi merupakan kombinasi antara

dua metode penyimpanan jangka panjang yang paling baik yaitu pembekuan dan pengeringan. Proses liofilisasi dimulai dengan membekukan suspensi bakteri dan mengeluarkan atau mengurangi kandungan airnya dengan cara sublimasi, yaitu penguapan langsung merubah bentuk es menjadi gas atau uap (Sugiawan, 2000). Keuntungan metode ini yaitu populer dan banyak digunakan untuk penyimpanan bakteri jangka panjang (Machmud, 2001).

Prinsip dari liofilisasi yaitu membekukan sampel secara cepat dalam kondisi hampa udara untuk menghindari terbentuknya kristal-kristal es yang dapat merusak sampel. Penghilangan kadar air pada sampel dilakukan dengan mengatur tekanan dan suhu. Umumnya sampel yang dapat diliofilisasi yaitu sampel seperti protein, bakteri, jamur, virus, obat-obatan, plasma sel dan jaringan yang sensitif terhadap panas dan mudah rusak jika pengeringan dilakukan pada kondisi standar (Carpentier dkk, 2007).

Hal yang perlu diperhatikan dalam proses liofilisasi yaitu penggunaan lioprotektan (*lyoprotectant*). Lioprotektan merupakan zat kimia nonelektrolit yang berperan untuk menstabilkan protein, mencegah kerusakan akibat pembekuan, dan melindungi dari kekeringan yang berlebihan sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan. Senyawa lioprotektan harus dapat memelihara bakteri dalam kondisi hidup dan memberi peluang untuk dapat ditumbuhkan kembali dengan baik dalam kondisi kering.

4. Angka Lempeng Total (ALT)

Tujuan dalam proses liofilisasi yaitu untuk mengawetkan kultur jangka panjang dengan mempertahankan daya hidup bakteri. Metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui daya hidup bakteri dapat dilakukan perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) atau disebut juga *Total Plate Count* (TPC). ALT merupakan jumlah bakteri yang ditemukan dalam per gram atau per milliliter sampel (Puspawati dkk, 2010).

Prinsip dari metode hitungan cawan adalah menumbuhkan sel bakteri yang masih hidup pada metode agar, sehingga sel tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Gunawan, 2017).

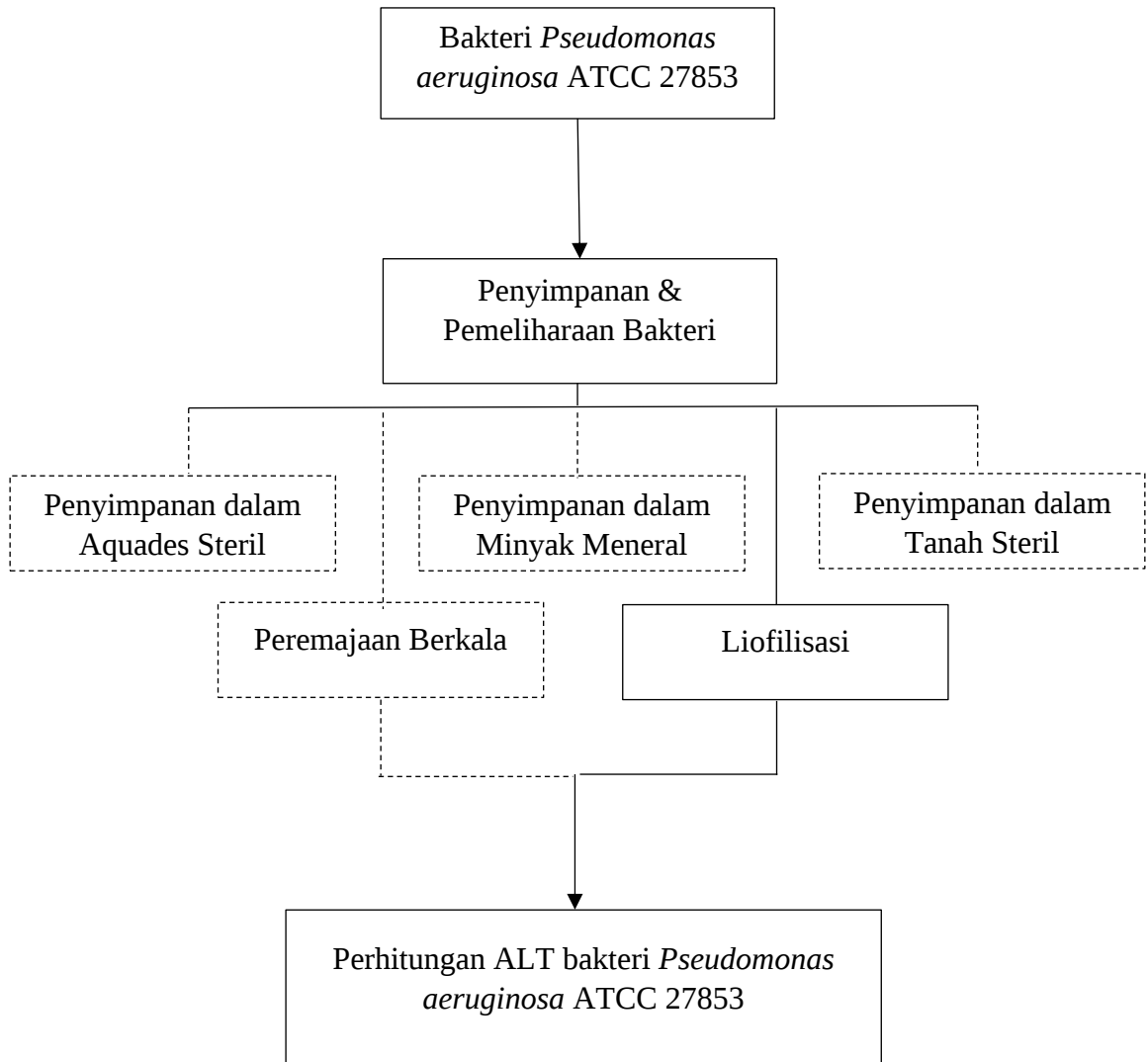
Beberapa metode perhitungan ALT sebagai berikut:

- a. *Pour Plate*, merupakan metode untuk menumbuhkan bakteri di dalam media agar dengan cara mencampurkan media agar yang masih cair dengan suspensi bakteri sehingga sel-sel tersebut tersebar merata. Suspensi bakteri perlu dilakukan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium agar di dalam cawan petri
- b. *Spread Plate*, merupakan suatu metode untuk menumbuhkan bakteri dengan cara menuangkan suspensi bakteri ke media agar yang telah memadat lalu disebar atau digores secara merata. Sama halnya dengan metode *pour plate*, pada metode ini juga dilakukan pengenceran suspensi bakteri sebelum ditumbuhkan pada medium agar di dalam cawan petri

Beberapa syarat dalam perhitungan ALT sebagai berikut:

- a. Jumlah koloni tiap cawan petri adalah 30-300
- b. Tidak ada koloni yang besarnya melebihi setengah luas cawan petri atau *spreader*
- c. Jika didapatkan <30 koloni per cawan petri pada beberapa pengenceran, maka jumlah koloni yang dihitung yaitu pengenceran terendah. Sebaliknya, jika didapatkan >300 koloni per cawan petri pada beberapa pengenceran, maka jumlah koloni yang dihitung yaitu pengenceran tertinggi
- d. Perbandingan jumlah koloni bakteri dari hasil pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran sebelumnya, jika sama atau lebih kecil dari 2, hasilnya dirata-rata, tetapi jika lebih besar dari 2 yang dipakai ialah jumlah bakteri dari pengenceran sebelumnya
- e. Jika dengan ulangan telah memenuhi syarat, hasilnya dirata-rata (Retnaningrum dkk, 2017).

B. Kerangka Teori



Keterangan:

—————

Diteliti

- - - - -

Tidak Diteliti

C. Pertanyaan Penelitian

1. Berapa rerata Angka Lempeng Total (ALT) bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sebelum diliofilisasi?
2. Berapa rerata Angka Lempeng Total (ALT) bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sesudah diliofilisasi dan disimpan 30 hari pada suhu 4°C?
3. Berapa selisih Angka Lempeng Total (ALT) bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sebelum dan sesudah diliofilisasi dan disimpan 30 hari pada suhu 4°C?