

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### **1. Bakteri**

###### **a. Definisi dan Bentuk Bakteri**

Bakteri termasuk dalam golongan prokariot, dan merupakan sel sederhana, memiliki ukuran hanya beberapa mikron sehingga tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. (Irianto, 2014).

Dalam menyerap zat warna Gram, bakteri dapat digolongkan menjadi dua golongan yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negative. Bakteri Gram positif merupakan bakteri yang menyerap zat warna pertama yaitu Kristal violet yang menyebabkan berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negative merupakan bakteri yang menyerap zat warna kedua yaitu safranin dan yang menyebabkan bakteri berwarna merah (Sari, 2014).

Bakteri memiliki bentuk yang bermacam macam, tetapi pada dasarnya strukturnya terdiri atas intisel yang tidak sempurna dengan kromosom yang terdiri atas lingkaran tertutup DNA. Beberapa macam bentuk bakteri yaitu :

#### 1) Bulat (kokus)

Bakteri yang memiliki bentuk bulat atau bola dinamakan kokus (*coc-cus*) dapat di temui pada genus *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, dan lain-lain.

#### 2) Batang (basil)

Bakteri yang mempunyai bentuk batang dinamakan sebagai bakteri *basilus* dan dapat dijumpai pada famili Enterobacteriaceae seperti *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*).

#### 3) Seperti koma (*vibrio*)

Bakteri yang memiliki bentuk seperti koma (batang bengkok) atau *vibrio* dapat dijumpai pada bakteri *Vibrio cholera* (Irianto, 2014)

#### 4) Spiral

Bakteri berbentuk spiral dijumpai pada penyebab penyakit sifilis yaitu *Treponema pallidum* yang memiliki panjang lengan yang berbeda (Soedarto, 2015).

#### b. Syarat Pertumbuhan Bakteri

Organisme untuk tumbuh membutuhkan semua unsur dalam bahan organiknya dan semua ion yang dibutuhkan untuk pengolahan energi dan katalis. Selain itu harus ada sumber energy untuk membuat gaya gerak proton dan untuk memungkinkan sintesis makromolekul. Kebutuhan gizi dan sumber-sumber energy

metabolic pada berbagai mikroorganisme sangat beragam. (Jawetz, 2016). Beberapa komponen yang dibutuhkan sel-sel bakteri untuk pertumbuhan, yaitu :

1) Nitrogen

Nitrogen di perlukan karena merupakan atom penting sebagai penyusun makromolekul seluler terutama protein dan asam nukleat. Bakteri mengambil unsur N atau nitrogen digunakan untuk menyintesis protein, DNA dan RNA.

2) Karbon

Karbon merupakan nutrisi yang paling penting yang di perlukan bakteri dalam proses pertumbuhannya dan merupakan atom pusat untuk semua struktur dan fungsi seluler.

3) Unsur NonLogam

Unsur non-logam yang diperlukan bakteri dalam sintesis protein bersama dengan nitrogen adalah sulfur, dan dalam pembentukan asam nukleat DNA dan RNA yang di perlukan adalah fosfor, selain itu fosfor juga di butuhkan dalam sintesis APT.

a) Sulfur

Sumber sulfur dapat diperoleh dari  $H_2S$  yang terdapat dari alam atau pun di dapat dari ion sulfat. Sulfur merupakan bagian integral dari asam amino

b) Fosfor

Sumber fosfor di dapat dari senyawa fosfat. Fosfor digunakan bakteri untuk pembentukan DNA dan RNA juga untuk proses sintesis energy berupa ATP.

4) Unsur logam ( $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$  dan  $\text{Fe}^{+3}$ )

Bakteri membutuhkan ion logam agar proses aktivasi seluler seperti transport electron selama oksidasi hayati dapat berjalan secara efisien. Ion-ion tersebut hanya dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit. Unsur-unsur logam tersebut dapat di peroleh dari garam-garam organik (Cappucino dan Sherman, 2014).

5) Vitamin

Vitamin dalam hal ini berperan dalam pertumbuhan seluler serta penting untuk aktivitas sel. Vitamin merupakan sumber koenzim, dan dalam pembentukan sistem enzim yang di perlukan adalah koenzim atau vitamin.

6) Air

Air di perlukan oleh sel-sel untuk membantu nutrient-nutrien dengan bobot molekul rendah melintasi membrane sel atau sebagai pelarut.

## 7) Energi

Energi berperan penting dalam transport active, biosintesis dan biodegradasi makromolekul. Aktivitas metabolic tersebut sangat membutuhkan energy yang constant agar tetap dapat berlangsung (Cappuccino dan Sherman, 2014 ; Hamdiyati, 2011).

### c. Kondisi Fisik Yang Diperlukan untuk Pertumbuhan Bakteri

#### 1) Suhu

Suhu merupakan faktor terpenting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Berdasarkan suhu dari tempat hidupnya, bakteri dapat dibagi dalam beberapa golongan sebagai berikut:

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

Bakteri pada umumnya dapat hidup pada rentang suhu minus 5°C sampai 80°C. Untuk sebagian besar bakteri yang bersifat patogen dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37°C. Bagi bakteri gram

negatif suhu optimal untuk tumbuh yaitu pada suhu 30<sup>0</sup> sampai 35<sup>0</sup>C (Soedarto, 2015).

## 2) pH

Pertumbuhan bakteri dapat optimal pada pH antara 6,5 dan 7,5. Pada beberapa spesies dapat tumbuh dalam keadaan sangat asam atau sangat alkali. Bagi kebanyakan spesies, nilai pH minimum dan maksimum ialah antara 4 dan 9. Pada bakteri famili Enterobacteriaceae membutuhkan pH yang konstan untuk pertumbuhannya.

## 3) Tekanan Osmose

Tekanan osmose sangat diperlukan untuk mempertahankan bakteri agar tetap hidup, apabila bakteri berada dalam larutan yang konsentrasinya lebih tinggi dari pada konsentrasi yang ada dalam sel bakteri, maka kemungkinan yang akan terjadi yaitu keluarnya cairan dari sel bakteri melalui membran sitoplasma yang disebut plasmolysis. Medium yang paling cocok untuk kehidupan bakteri ialah medium yang isotonik terhadap isi sel bakteri (Dwijoseputro, 2018).

#### 4) Oksigen

Berdasarkan dari kebutuhan terhadap oksigen , bakteri dapat digolongkan menjadi:

- a) Bakteri aerob, yaitu bakteri yang dalam pertumbuhannya memerlukan adanya oksigen.
- b) Bakteri anaerob fakultatif, yaitu bakteri yang dapat tumbuh, apabila terdapat 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.

#### 5) Kadar air

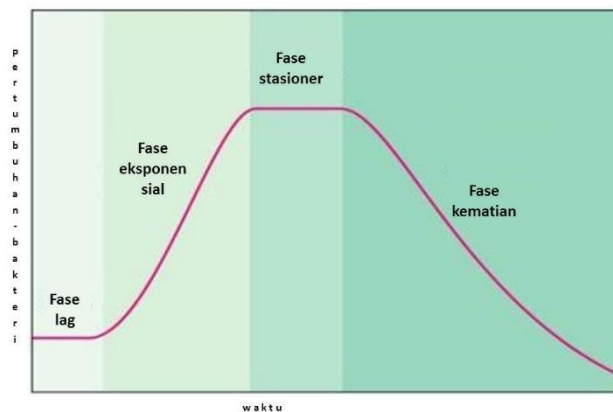
Mikroba dapat hidup dengan adanya air. Bakteri untuk dapat hidup juga memerlukan air bebas tertentu. Air digunakan sel bakteri untuk membantu nutrient dengan bobot molekul rendah melintasi membrane sel atau sebagai pelarut (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### d. Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri merupakan penambahan secara teratur pada semua komponen di dalam sel bakteri. Ukuran sel bakteri ditentukan dari kecepatan pertumbuhan. Semakin cepat pertumbuhan maka semakin cepat ukuran sel bertambah. Sedangkan, umur sel bakteri dapat

ditentukan setelah selesai pembelahan sel dan untuk umur kultur bakteri dapat ditentukan dari lama atau waktu inkubasi. Jika kondisi media kultur optimal bagi pertumbuhan dan kehidupan bakteri maka akan terjadi pertumbuhan yang maksimal (Hamdayati, 2011; Soedarto, 2015).

Pertumbuhan bakteri pada media kultur cair atau media berupa kaldu (broth) menunjukkan kurva pertumbuhan dengan empat fase seperti berikut. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dipisahkan menjadi empat fase utama :



Gambar 1. Kurva pertumbuhan bakteri

Sumber : Yulianti, 2019



1) Fase lag (fase pertumbuhan lamban)

Fase ini merupakan fase penyesuaian diri dari lingkungan media asal ke media pertumbuhannya, yang mulai mempersiapkan diri atau waktu yang diperlukan untuk adaptasi terhadap lingkungannya yang baru dan untuk memperbanyak diri.

2) Fase log (=fase eksponensial=fase pertumbuhan cepat)

Pada fase ini, kecepatan pertumbuhan dan perkembangan bakteri terjadi sangat cepat dan maksimum. Komposisi sel bakteri dan bahan metabolitnya relatif konstan untuk jangka waktu tertentu. Hal ini tergantung dari sifat-sifat alamiah bakteri dan lingkungannya.

3) Fase stasioner (fase statis)

Pada fase ini, kecepatan pertumbuhan dan perkembangbiakan akan mendatar atau *stationary*. Pada fase ini jumlah bakteri yang tumbuh seimbang dengan jumlah bakteri yang mati.

4) Fase Penurunan

Pada fase ini, terjadi peningkatan kematian sel bakteri sehingga terjadi penurunan populasi bakteri. Kecepatan pertumbuhan bakteri menjadi negative yang dikarenakan bakteri kekurangan nutrisi (Soedarto, 2015 : Dwijoseputro,2018).

## 2. Bakteri *Escherecia coli* (*E.coli*)

### a. Klasifikasi Bakteri *E.coli*

Klasifikasi Bakteri *E.coli* adalah sebagai berikut :

Domain : *Bacteria*

Kingdom : *Eubacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Class : *Gammaproteobacteria*

Order : *Enterobacteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli* (Lubis, 2015).

### b. Morfologi Bakteri

Bakteri *E.coli* merupakan bakteri yang berbentuk batang pendek memiliki panjang sekitar 2  $\mu\text{m}$ , diameter 0,7  $\mu\text{m}$ , dan lebar 0,4-0,7  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini merupakan bakteri Gram Negatif. Bakteri *E.coli* memiliki 150 tipe antigen O, 50 tipe antigen H dan 90 tipe antigen K. Bakteri *E.coli* merupakan bakteru anaerob fakultatif sehingga dapat hidup dalam kondisi aerob maupun anaerob (Lubis, 2015).

*E.coli* merupakan bakteri yang dapat membentuk rantai, jarang membentuk spora, mampu membentuk gas H<sub>2</sub>S pada beberapa strain yang mendapatkan plasmid dari Salmonella, akan tetapi pada umumnya tidak dapat memproduksi gas H<sub>2</sub>S. *E.coli* juga memiliki sejumlah fimbriae atau pili sebagai alat melekat pada host (Budianto, 2004).

*E.coli* memiliki struktur yang dikelilingi oleh membrane sel, yang terdiri dari sitoplasma yang mengandung nucleoprotein. Dinding sel yang berlapis kapsul menutupi membrane *E.coli*. Bakteri *E.coli* memiliki flagella dan pili yang menjulur dari permukaan. Untuk membedakan serotype golongan (Budianto, 2004).

Bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada hampir seluruh media yang bisa dipakai untuk isolasi bakteri enteric. Koloni *E.coli* pada media tampak bulat berukuran kecil hingga sedang, basah, halus, memiliki permukaan licin, pinggiran yang rata dan berwarna keabuan atau kilap logam (Lubis, 2015).

#### c. Struktur Antigen

*E.coli* memiliki tiga struktur utama antigen yaitu dinding sel, kapsul, dan flagella. Dinding sel *E.coli* merupakan lipopolisakarida yang memiliki sifat pirogen dan menghasilkan endotoksin serta di klasifikasikan sebagai antigen O. Pada kapsul *E.coli* berupa polisakarida yang melindungi membrane luar dari fagositik dan sistem

komplemen yang diklasifikasikan sebagai antigen K. Flagela pada *E.coli* terdiri dari protein yang memiliki sifat antigenic dan merupakan antigen H. Enterotoksin, hemolisin, kolisin , *siderophor*, dan molekul pengikat besi (aerobaktin dan enterobaktin) merupakan penyebab dari faktor virulensi *E.coli* (Budianto, 2004).

d. Syarat pertumbuhan *E.coli*

*E.coli* dapat tumbuh dalam suhu 10-40<sup>0</sup> C dengan suhu optimal 37<sup>0</sup> C, dengan pH optimum 7,0-7,5 dan dapat hidup di tempat yang lembab. Bakteri *E.coli* dapat mati dengan cara pasteurisasi.

*E.coli* dapat meragi glukosa menjadi asam disertai dengan pembentukan gas, serta dapat meragi laktosa, menghasilkan nitrit hasil reduksi dari nitrat, membentuk indol maupun tidak dan pada tes uji sitrat menghasilkan hasil (-) (Lubis, 2015).

*E.coli* dapat terbunuh oleh antibiotika, sinar Ultraviolet (UV), atau suhu tinggi lebih dari 1000<sup>0</sup> C. Suhu tinggi tersebut dapat merusak protein yang ada di dalam sel yang membuat *E.coli* tidak dapat hidup kembali. *E.coli* dapat bertahan hidup pada pendinginan maupun pembekuan (Girad et al., 2003).

e. Patogenitas

Bakteri *Eschericia coli* merupakan bakteri koliform dan hidupp dalam usus manusia sehingga digunakan sebagai indicator sanitasi. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi siluar usus seperti sistitis, kolestitis, apendisitis, peritonitis, pielonefritis, infeksi pada luka pasca

operasi, meningitis dan sepsis. Selain itu juga dapat menginfeksi saluran pencernaan dengan klasifikasi bakteri *Eschericia coli* berdasarkan sifat virulensinya, dan dapat menyebabkan penyakit diare dengan mekanisme yang berbeda (Lubis, 2014)

### 3. Teknik penyimpanan dan pemeliharaan bakteri

Kultur bakteri murni yang digunakan setiap saat harus dalam kondisi yang baik. Untuk menjaga kualitas kultur bakteri murni tetap dalam kondisi yang baik harus dilakukan penyimpanan dan pemeliharaan terhadap kultur bakteri tersebut. Penyimpanan atau koleksi meliputi jangka panjang maupun jangka pendek. Penyimpanan jangka pendek merupakan penyimpanan yang dilakukan untuk keperluan rutin penelitian yang di sesuaikan dengan kegiatan program tertentu. Penyimpanan jangka panjang dilakukan apabila suatu saat di perlukan dapat diperoleh kembali atau dalam keadaan tersedia sehingga harus mempertahankan daya hidup bakteri. Hal ini dilakukan dalam rangka koleksi dan konservasi plasma nutfah mikroba (Prastowo, 2019 : Setiaji, 2015).

Penyimpanan dilakukan dalam hal berkaitan dengan tujuan preservasi yaitu mengurangi laju metabolisme mikroorganisme hingga sekecil mungkin. Penyimpanan juga dilakukan agar dapat mempertahankan viabilitas (daya hidupnya) dan memelihara sebaik mungkin biakan sehingga diperoleh angka perolehan dan kehidupan yang tinggi dengan perubahan ciri-ciri yang minimum (Setiaji, 2015).

Berikut adalah beberapa teknik penyimpanan bakteri yang digunakan untuk menyimpan bakteri :

a. Peremajaan Berkala

Peremajaan berkala yaitu peremajaan dengan cara memindahkan atau memperbaharui biakan lama ke media tumbuh yang baru secara berkala, misalnya sebulan atau dua bulan sekali. Teknik ini merupakan cara paling tradisional yang digunakan peneliti untuk memelihara koleksi isolat mikroba di laboratorium. Teknik ini mempunyai beberapa kendala, diantaranya kemungkinan terjadi perubahan genetik melalui seleksi varian, peluang terjadinya kontaminasi, dan terjadi kekeliruan pemberian label. Meskipun demikian banyak bakteri dan jamur yang dapat bertahan hidup dalam tabung agar *Nutrient Agar* yang tertutup rapat hingga sepuluh tahun atau lebih disegala macam suhu (Prastowo, 2019).

b. Penyimpanan Dalam Aquades Steril

Beberapa jenis bakteri, terutama yang berbentuk batang dan bereaksi Gram negatif seperti *Pseudomonas* dapat disimpan cukup lama dalam aquades steril pada suhu ruang atau suhu 10-15°C. Pada kondisi penyimpanan ini, bakteri yang disimpan masih berpeluang tumbuh dengan lambat, sehingga tidak dapat dijamin stabilitas genetiknya untuk jangka panjang. Penyimpanan dengan cara ini juga memungkinkan terjadinya kontaminasi. Oleh karena itu, cara ini lebih dianjurkan

sebagai alternatif penyimpanan jangka sedang atau sebagai pendamping jangka panjang.

c. Penyimpanan Dalam Minyak Mineral

Metode penyimpanan dalam minyak mineral dilakukan dengan cara menyimpan biakan bakteri dalam tabung dan menutupnya dengan minyak mineral atau paraffin 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 untuk ditransportasikan kurang praktis dan keberadaan minyak mineral mengakibatkan peremajaan menjadi kotor (Prastowo, 2019).

d. Penyimpanan Dalam Tanah Steril

Teknik penyimpanan mikroba pada tanah kering terutama dapat berguna untuk fungi, *Streptomyces spp.*, dan bakteri yang membentuk spora seperti *Bacillus spp.* dan *Clostridium spp.*. *Rhizobium spp.* juga dapat disimpan dengan baik dengan cara ini. Teknik ini mempunyai beberapa keuntungan yaitu biaya murah, penyimpanan pada suhu ruang, dan stabilitas genetik mikroba dapat dipertahankan.

e. Penyimpanan dengan Metode Kering Beku atau Liofilisasi

Metode Liofilisasi atau disebut juga pengeringan beku (*freeze drying*) merupakan salah satu penyimpanan kultur bakteri jangka panjang. Penyimpanan jangka panjang harus tetap memertahankan daya hidup bakteri. Metode liofilisasi adalah metode penyimpanan kering

beku dengan menambahkan lioprotektan (*lyoprotectant*) sebagai bahan pelindung. Sebelum dilakukan liofilisasi, untuk meminimalisir kerusakan sel bakteri dan mempertahankan daya hidup bakteri dilakukan penambahan lioprotektan. Beberapa lioprotektan yang dapat digunakan untuk bakteri yaitu susu skim, sukrosa, trehalosa dan gliserol. Lioprotektan yang digunakan dapat berbahan dasar gula karena gula mempunyai kemampuan untuk melindungi struktur protein dalam keadaan kering. Gula yang dapat berfungsi sebagai lioprotektan untuk protein meliputi glukosa, laktosa, trehalosa, maltodektrin dan mannitol. Penambahan gula berupa sakarida non pereduksi seperti sukrosa merupakan stabilitor yang dapat melindungi protein secara efektif (Melpin dkk, 2015; Nugraheni, 2017; Puspawati dkk, 2010).

Metode liofilisasi merupakan metode kering beku, pada teknik ini produk akan dibekukan kemudian air dalam bahan langsung diubah menjadi uap. Proses pembekuan dilakukan dalam bejana tertutup rapat dengan tekanan vacuum menggunakan panas yang terjaga dan didehidrasi. Dan proses liofilisasi di dapatkan hasil bahan yang kering, ringan dan hanya membutuhkan ruang yang lebih ringkas. (Dewi, 2009)

Teknik ini merupakan teknik penyimpanan yang paling populer dan banyak digunakan untuk penyimpanan jangka panjang mikroba. Teknik ini cocok untuk untuk menyimpan berbagai jenis mikroorganisme termasuk virus, bakteri, khamir, jamur berspora dan jamur yang tidak berspora, bahkan algae dan protozoa. Bagi lembaga



koleksi dan pemasok biakan mikroba, teknik ini juga sangat sesuai, karena ampul dalam jumlah besar dapat diproduksi dan dengan mudah disebarluaskan. Banyak biakan mikroba yang disimpan dengan cara ini dapat bertahan hidup hingga puluhan tahun (Machmud, 2001).

Metode liofilisasi banyak digunakan dan memiliki keunggulan yang lebih dalam mempertahankan struktur dan fisik. Metode ini umumnya digunakan untuk mengawetkan kultur dan produksi konsentrat kultur starter (Rusli, 2017; Puspawati dkk, 2010). Keunggulan produk hasil liofilisasi antara lain adalah dapat mempertahankan stabilitas produk, dapat mempertahankan stabilitas struktur bahan sehingga dapat meningkatkan daya rehidrasi, daya hidup dan rekonstitusi sel-sel hidup tetap tinggi (Pujihastuti, 2009).

Berdasarkan apa yang telah dijelaskan di atas maka teknik penyimpanan liofilisasi merupakan teknik penyimpanan yang dapat digunakan sebagai penyimpanan jangka panjang yang dapat diteliti lebih lanjut dengan penelitian yang akan dilakukan.

#### 4. Angka Lempeng Total (ALT)

Angka Lempeng Total (ALT) umumnya dikenal sebagai metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada satu sempel atau untuk mengetahui daya hidup bakteri, hasil akhir berupa koloni yang diamati secara visual dengan menggunakan media padat. *Plate Count Agar* (PCA) merupakan media padatnya.

Prinsip dari metode hitungan cawan adalah menumbuhkan sel bakteri hasil pengenceran 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). Pengenceran yang digunakan yaitu diawali dari 1:10 dan dilakukan kelipatannya. Koloni bakteri yang tumbuh pada media dihitung dan dikalikan dengan kebalikan pengenceran, sehingga diketahui jumlah bakteri tiap gram atau tiap mililiter sampel (Retnaningrum dkk, 2017). Hasil akhir dari perhitungan ALT berupa angka dalam koloni (CFU/*Colony Forming Unit*) pergram atau per milimetre dapat pula koloni per 100 milimeter (Purlianto, 2015).

Metode ini dapat dilakukan dengan cara cawan gores (*spread plate*) maupun cawan tuang (*pour plate*). Cara cawan gores (*spread plate*) dilakukan dengan menuangkan stok kultur bakteri di atas media agar yang telah padat dan digores menggunakan ose, kemudian diinkubasi. Pada saat menggores di atas media cukup sulit supaya terjadi pertumbuhan koloni bakteri secara merata. Cara cawan tuang (*pour plate*) dilakukan dengan mencampur stok kultur dengan media agar suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$ . Dengan cara ini pertumbuhan bakteri lebih merata dan terdapat pada permukaan serta di dalam media. Namun sebelum dilakukan perhitungan, pada kedua cara tersebut stok kultur bakteri harus diinokulasi dan diinkubasi terlebih (Gunawan, 2017).

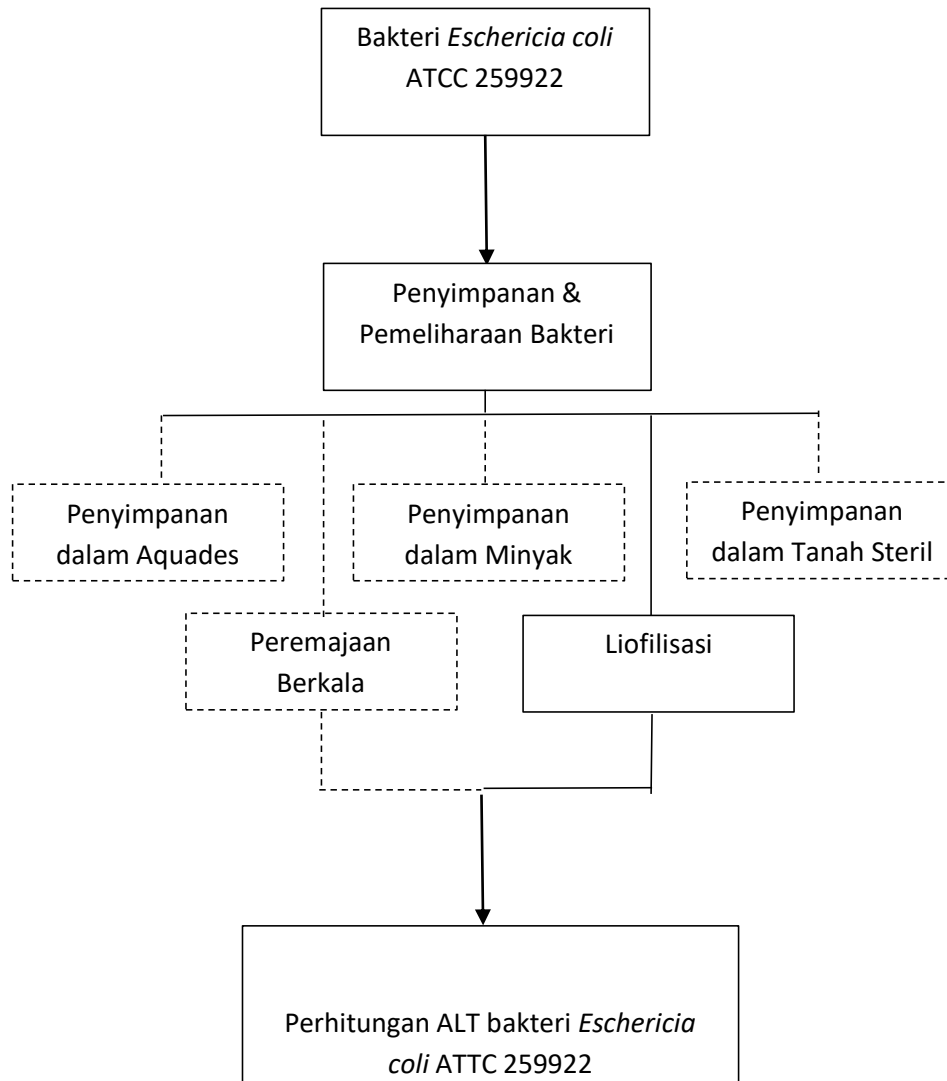
Perhitungan koloni bakteri *plate count* (metode cawan) dapat dilakukan dengan perhitungan *Standr Plate Count* (SPC). Koloni yang berukuran kecil, besar atau menjalar diaanggap sebagai satu koloni. Perhitungan dapat dilakukan dengan memberi tanda titik pada cawan petri sambil dihitung secara manual atau dengan menggunakan *colony counter*. Hasil dari perhitungan dimasukkan kedalam beberapa kelompok yang dijelaskan dalam table berikut :

Tabel 1. Data Syarat Perhitungan koloni Bakteri

Jumlah koloni/ cawan petri <i>(Colony From Unit</i>	Keterangan
30-300 CFU	Dapat dihitung, ideal untuk dimasukkan kedalam rumus
>300 CFU	TBUD (Tidak Bisa Untuk Dihitung)
<300 CFU	TSUD (Terlalu Sedikit Untuk Dihitung)
Tidak membentuk koloni dan >1/4 cawan petri	<i>Spreader</i>

Sumber : Harti AS, 2015

## B. Kerangka Teori



## C. Pertanyaan Penelitian

1. Berapa Jumlah ALT pada bakteri *Eschericia coli* ATCC 259922 sebelum diliofilisasi dan disimpan selama 30 hari pada suhu 4<sup>0</sup>C?
2. Berapa Jumlah ALT pada bakteri *Eschericia coli* ATCC 259922 setelah diliofilisasi dan disimpan selama 30 hari pada suhu 4<sup>0</sup>C?

