

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Telaah Pustaka

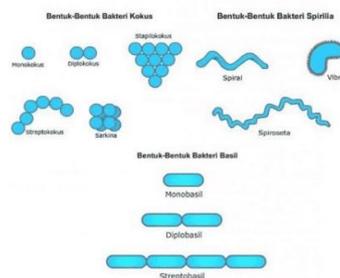
##### 1. Bakteri

###### a. Pengertian Bakteri

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri merupakan makhluk hidup yang memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terdapat dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoli. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler. (Jawetz dkk., 2005).

###### b. Bentuk Bakteri

Bakteri memiliki 3 bentuk, yaitu:



Gambar 1. Bentuk Bakteri

Sumber : Fadiel, 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) Stafilokokus, 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 *Escherichia coli*, *Salmonella 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*. 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 (Irianto, 2014).

Bentuk tubuh atau morfologi bakteri dipengaruhi oleh keadaan lingkungan, medium dan usia. Pada umumnya bakteri yang usianya lebih muda ukurannya relatif lebih besar daripada yang sudah tua (Tamher, 2008).

c. Syarat Pertumbuhan Bakteri

Faktor-faktor yang menjadi syarat pertumbuhan bakteri adalah :

1) Karbon

Karbon merupakan nutrisi paling penting yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri dan sebagai atom pusat untuk semua struktur dan fungsi seluler. Terdapat dua jenis mikroba yang bergantung pada karbon, yaitu:

a) Autotrof

Organisme ini tidak membutuhkan nutrisi organik untuk pertumbuhannya sehingga dapat tumbuh pada media yang hanya mengandung senyawa anorganik. Organisme ini menggunakan karbondioksida sebagai sumber karbon.

b) Heterotrof

Organisme ini memerlukan senyawa organik untuk pertumbuhannya, terutama glukosa (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Nitrogen

Nitrogen diperlukan untuk mensintesis asam amino yang selanjutnya akan digunakan untuk mensintesis 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 (Tim Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya, 2003).

### 3) 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. Ion-ion  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$  dan  $\text{Fe}^{+3}$  hanya dibutuhkan dalam konsentrasi sedikit. Unsur logam tersebut dapat diperoleh dari garam-garam anorganik (Cappuccino dan Sherman, 2014).

### 4) 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  $\text{H}_2\text{S}$  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 (Tim Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya, 2003).

#### 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. Tipe bioenergetik dibagi menjadi dua, yaitu:

##### a) Fototrof

Mikroorganisme tipe fototrof membutuhkan sumber energi yaitu energi radiasi.

##### b) Kemotrof

Mikroorganisme tipe kemotrof membutuhkan sumber energi yaitu oksidasi senyawa kimia (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### d. Kondisi Fisik untuk Pertumbuhan Bakteri

Bakteri yang sedang tumbuh, jumlah selnya akan meningkat dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat dan akibat pertumbuhan tersebut akan terbentuk koloni, serta pertumbuhan bakteri tersebut dapat diukur atau dihitung. Berbagai faktor sangat menentukan apakah suatu kelompok mikroba yang terdapat di dalam suatu lingkungan dapat tumbuh subur, tetap dorman atau mati (Hasyimi, 2010).

Untuk pertumbuhannya, bakteri memerlukan unsur kimiawi serta kondisi fisik tertentu (Tim Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya, 2003).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu:

##### 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. Suhu dapat mempengaruhi laju pertumbuhan, mempengaruhi jumlah total pertumbuhan, merubah proses-proses metabolik tertentu serta morfologi (bentuk luar) sel. Umumnya, bakteri tumbuh pada suhu

di atas 35°C. Namun, setiap spesies bakteri memiliki suhu optimum untuk pertumbuhan (Hafsan, 2011). Suhu pertumbuhan optimum adalah suhu inkubasi yang memungkinkan pertumbuhan tercepat selama periode waktu yang singkat, yaitu antara 12 - 24 jam (Hasyimi, 2010). Berdasarkan suhu yang diperlukan untuk tumbuh, bakteri dibagi menjadi 3 golongan sebagai berikut:

- a) Psikrofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara 0-20°C dengan suhu optimum 25°C misalnya golongan mikroba laut.
- b) Mesofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara 25-40°C dengan suhu optimum 37°C misalnya golongan bakteri patogen yang menyebabkan penyakit pada manusia.
- c) Termofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara 50-60°C (Tim Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya, 2003).

### 3) pH

Untuk pertumbuhannya, bakteri juga memerlukan pH tertentu, namun pada umumnya bakteri memiliki pH optimum bagi pertumbuhannya berkisar antara 6,5-7,5. Pergeseran pH dalam suatu medium dapat terjadi sedemikian besar, karena akibat adanya senyawa-senyawa asam atau basa selama pertumbuhan. Pergeseran ini dapat dicegah dengan menggunakan larutan penyangga yang disebut Buffer. Mekanisme kerja larutan buffer adalah menetralkan asam maupun basa dari luar. Garam-garam anorganik diperlukan oleh mikroba untuk keperluan

mempertahankan keadaan koloidal, mempertahankan tekanan osmose di dalam sel, memelihara keseimbangan pH serta sebagai aktivator enzim (Hasyimi, 2010).

#### 4) Pencahayaan

Cahaya yang berasal dari sinar matahari dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Bakteri lebih menyukai kondisi gelap, karena terdapatnya sinar matahari secara langsung dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Jawetz dkk., 2005).

#### 5) Oksigen

Kebutuhan oksigen pada bakteri tertentu mencerminkan mekanisme yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan energinya. Berdasarkan kebutuhan oksigen tersebut, bakteri dapat dipisahkan menjadi lima kelompok:

- a) Anaerob obligat, yaitu bakteri yang tumbuh hanya dalam keadaan tekanan oksigen sangat rendah dan oksigen bersifat toksik
- b) Anaerob aerotoleran, yaitu bakteri yang tidak mati dengan adanya oksigen
- c) Anaerob fakultatif, yaitu bakteri yang dapat tumbuh, baik ada oksigen maupun tanpa adanya oksigen
- d) Aerob obligat, yaitu bakteri yang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya

e) Mikroaerofilik, yaitu bakteri yang tumbuh baik pada tekanan oksigen rendah, tekanan yang tinggi dapat menghambat pertumbuhannya (Jawetz dkk., 2005).

#### 6) Tekanan Osmotik

Suatu tekanan osmotik akan sangat mempengaruhi bakteri jika tekanan osmotik lingkungan lebih besar (hipertonis) sel akan mengalami plasmolisis. Sebaliknya jika tekanan osmotik lingkungan yang hipotonis akan menyebabkan sel membengkak dan juga akan mengakibatkan rusaknya sel. Oleh karena itu dalam mempertahankan hidupnya, sel bakteri harus berada pada tingkat tekanan osmotik yang sesuai, walaupun sel bakteri memiliki daya adaptasi, perbedaan tekanan osmotik dengan lingkungannya tidak boleh terlalu besar (Jawetz dkk., 2005).

#### e. Fase Pertumbuhan Bakteri

Ada empat macam fase pertumbuhan mikroorganisme, yaitu:

##### 1) Fase Lag

Fase lag merupakan fase adaptasi, yaitu fase penyesuaian mikroorganisme pada suatu lingkungan yang baru. Ciri fase lag adalah tidak adanya peningkatan jumlah sel, yang ada hanyalah peningkatan ukuran sel. Lama fase lag tergantung pada kondisi dan jumlah awal mikroorganisme yang diambil dari kulturnya.

## 2) Fase Logaritma (Eksponensial)

Fase logaritma merupakan fase dimana terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase logaritma ini sangat dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya. Hal yang dapat menghambat laju pertumbuhan adalah bila satu atau lebih nutrisi dalam kultur habis, sehingga hasil metabolisme yang bersifat racun akan tertimbun dan menghambat pertumbuhan.

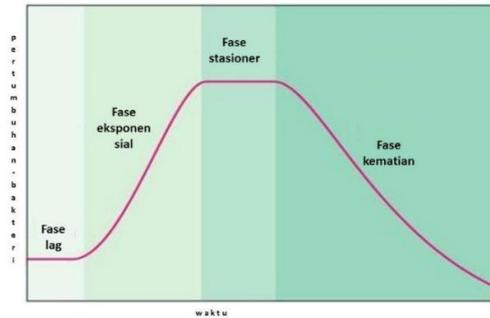
## 3) Fase Stationer

Fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Sehingga jumlah keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena kematian diimbangi oleh pembentukan sel-sel baru melalui pertumbuhan dan pembelahan dengan nutrisi yang dilepaskan oleh sel-sel yang mati karena lisis. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel.

## 4) Fase Kematian

Fase kematian merupakan fase dimana laju kematian lebih besar sehingga terjadi penurunan populasi bakteri (Riadi, 2016).

Berikut adalah gambar fase pertumbuhan bakteri.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sumber : Ratna Yuniati, 2012

## 2. Bakteri *Bacillus subtilis*

### a. Klasifikasi

Berikut adalah klasifikasi *Bacillus subtilis* (Madigan, 2005):

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *Bacillus subtilis*

### b. Deskripsi

*Bacillus subtilis* adalah bakteri saprofit dan bakteri tanah yang memberikan kontribusi pada siklus nutrisi karena kemampuannya untuk menghasilkan berbagai enzim. Bakteri ini telah digunakan di industri untuk menghasilkan protease, amilase,

antibiotik, dan bahan kimia. *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan penyakit yang membuat fungsi imun seseorang terganggu, misalnya meningitis dan gastroenteritis akut (Jawetz dkk., 2005).

c. Morfologi dan Sifat

Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan salah satu jenis bakteri Gram positif dan berbentuk basil (batang) yang dapat membentuk endospora berbentuk oval di bagian sentral. Koloni bakteri pada media agar berbentuk bulat sedang, tepi tidak teratur, permukaan tidak mengkilat dan berwarna kecoklatan. *Bacillus subtilis* mempunyai panjang 2-3  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,7-0,8  $\mu\text{m}$ . *Bacillus subtilis* dapat hidup dikondisi dengan adanya oksigen atau tidak ada oksigen sehingga disebut sebagai mikroorganisme anaerobik fakultatif (Jawetz dkk., 2005).

Berikut adalah gambar morfologi bakteri *Bacillus subtilis*.



Gambar 3. Morfologi Bakteri *Bacillus subtilis*

Sumber : Madya, 2013

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, mereduksi atau mengurangi laju metabolisme

dengan tetap mempertahankan viabilitasnya dan 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 Teknik Kering Beku (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).

Fungsi lioprotektan adalah menstabilkan protein, mencegah kerusakan akibat pembekuan, dan melindungi dari kekeringan yang berlebihan. Pemilihan lioprotektan tergantung pada mikroba yang akan disimpan. Senyawa lioprotektan harus dapat memelihara mikroba dalam kondisi hidup dan memberi peluang untuk dapat ditumbuhkan kembali dengan baik dalam kondisi kering. Beberapa macam lioprotektan meliputi, skim milk, sukrose, trehalose, Bovine Serum Albumin (BSA) Fraction V, dan gliserol.

Proses liofilisasi merupakan kombinasi antara dua metode penyimpanan jangka panjang yang paling baik yaitu pembekuan dan pengeringan. Metode ini populer dan banyak digunakan untuk penyimpanan bakteri jangka panjang. 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).

Prinsip dari liofilisasi yaitu membekukan sampel dan mengurangi kandungan airnya dengan cara sublimasi, yaitu penguapan langsung merubah bentuk es menjadi gas atau uap (Sugiawan, 2000).

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

Angka Lempeng Total (ALT) merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba pada suatu sampel. Uji ALT menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni (CFU) per ml (BPOM, 2008). Pada pengujian ALT menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA) sebagai media padatnya.

Pada metode ALT setiap sel mikroba yang hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi 1 koloni setelah diinkubasi dalam media biakan dengan lingkungan yang sesuai. Koloni bakteri adalah kumpulan bakteri sejenis dan mengelompok pada media kultur hasil pertumbuhan. Setelah diinkubasi maka akan diamati dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah mikroba dalam suspensi tertentu. Jumlah bakteri hidup yang dihitung (*viable count*) menggambarkan sel bakteri yang hidup.

Koloni yang tumbuh pada media tidak selalu berasal dari 1 sel mikroba, karena beberapa mikroba ada yang cenderung mengelompok atau berantai. Suatu bakteri akan menghasilkan 1 koloni apabila ditumbuhkan pada media dan lingkungan yang sesuai. Istilah *Coloni*

*Forming Unit* (CFU) digunakan untuk menghitung jumlah mikroba yang hidup dan menghasilkan 1 koloni. Lempeng agar yang paling baik digunakan dalam perhitungan yaitu lempeng yang mengandung 30 – 300 koloni (BPOM RI, 2006).

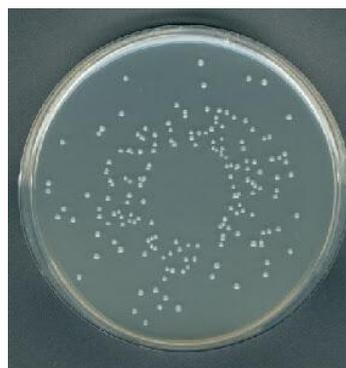
Beberapa metode perhitungan ALT sebagai berikut:

- 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 untuk menentukan standar perhitungan koloni menggunakan metode ALT, sebagai berikut :

- a. Pelaporan hanya terdiri dari dua angka, yaitu angka satuan dan desimal. Lakukan pembulatan ke atas apabila angka  $\geq 5$
- b. Dihitung jumlah koloni tiap cawan petri, dengan syarat jumlah koloni diantara 30-300 koloni

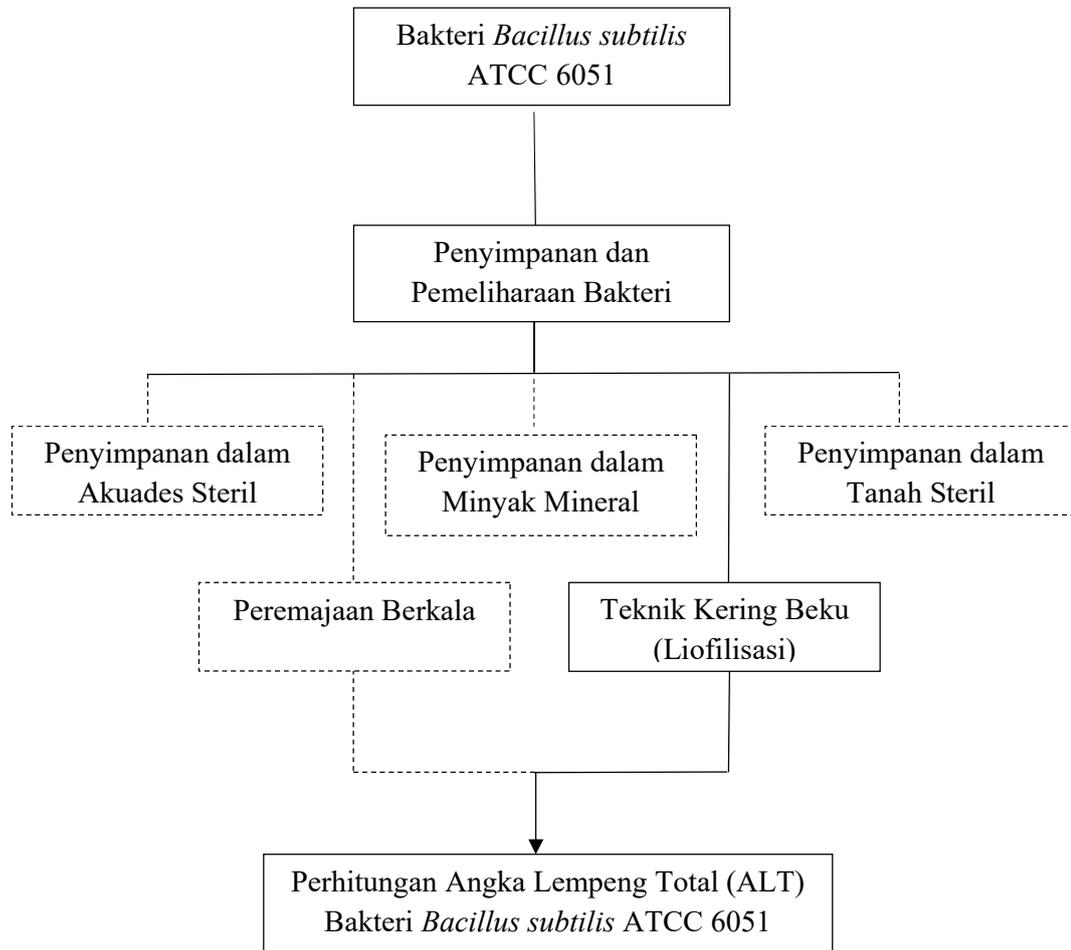
- c. Jika pada semua pengenceran didapatkan  $< 30$  koloni per cawan petri, maka jumlah koloni yang dihitung yaitu pada pengenceran terendah. Jumlah sebenarnya tetap ditulis
- d. Jika pada semua pengenceran didapatkan  $> 300$  koloni per cawan petri, maka jumlah koloni yang dihitung yaitu pada pengenceran tertinggi. Jumlah sebenarnya tetap ditulis
- e. Jika jumlah koloni dari masing-masing tingkat pengenceran hasilnya diantara 30-300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah adalah  $\leq 2$ , maka hitung rata-ratanya untuk pelaporan
- f. Jika jumlah koloni dari masing-masing tingkat pengenceran hasilnya diantara 30-300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah adalah  $\geq 2$ , maka ambil nilai terkecil untuk pelaporan
- g. Jika ada koloni yang menutup lebih besar daripada setengah luas cawan petri. Koloni tersebut dikenal sebagai *spreader*
- h. Jika dengan ulangan telah memenuhi syarat, hasilnya dirata-rata (Retnaningrum dkk, 2017).



Gambar 4. Angka Lempeng Total pada Media *Plate Count Agar*

Sumber : Teknologi Laboratorium Medik, 2016

## B. Kerangka Teori



Gambar 5. Kerangka Teori

Keterangan :

----- : Tidak dilakukan

————— : Dilakukan

### **C. Pertanyaan Penelitian**

1. Berapa rerata Angka Lempeng Total (ALT) pada bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6051 sebelum diliofilisasi?
2. Berapa rerata Angka Lempeng Total (ALT) pada bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6051 sesudah diliofilisasi dan disimpan 30 hari pada suhu 4°C?
3. Berapa selisih rerata Angka Lempeng Total (ALT) pada bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6051 sebelum dan sesudah diliofilisasi dan disimpan 30 hari pada suhu 4°C?