

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Telaah Pustaka

##### 1. Bakteri *Staphylococcus aureus*

###### a. Morfologi dan Sifat

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri berbentuk bulat atau lonjong dan memiliki diameter sebesar 0.8-0.9  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini termasuk dalam jenis bakteri yang tidak bergerak (*nonmotil*), tidak memiliki simpai dan spora (Gupte, 1990). *Staphylococcus aureus* pada pewarnaan Gram bersifat gram positif dan jika diamati di bawah mikroskop akan terlihat bentuk bulat-bulat bergerombol seperti anggur (Soedarto, 2015).

Morfologi koloni *Staphylococcus aureus* pada agar gizi yang telah diinkubasi selama 24 jam didapatkan koloni berukuran 2-4 mm, bulat, cembung, licin, berkilat, keruh, memiliki tepi yang rata, mudah diemulsikan dan membentuk pigmen berwarna kuning emas. Penambahan susu atau 1% gliserol monoasetat dapat meningkatkan pembentukan pigmen (Gupte, 1990). Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki pigmen *staphyloxanthin* yang berfungsi sebagai faktor virulensi, sehingga koloni bakteri berwarna kuning (Soedarto, 2015).

Bakteri *Staphylococcus aureus* bersifat *aerob* atau *anaerob* fakultatif, katalase positif serta dapat hidup pada lingkungan dengan kadar garam tinggi (*halofilik*), misalnya pada NaCl 10% (FK

UNIBRAW, 2003). Bakteri ini juga tahan hidup pada kekeringan dan panas sampai suhu 50°C (Soedarto, 2015). Namun bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh optimum pada suhu 37°C dan pH 7.4 (Gupte, 1990).

*Staphylococcus* sp. bersifat katalase positif, hal ini yang membedakan bakteri *Staphylococcus* sp. dengan *Streptococcus* sp. Bakteri ini mampu menfermentasikan karbohidrat, menghasilkan asam laktat dan tidak menghasilkan gas (Brooks dkk., 2005).

*Staphylococcus aureus* pada tes koagulase menunjukkan hasil positif. Bakteri ini melindungi diri terhadap fagositosis dan respon imun hospes dengan cara menggumpalkan fibrinogen di dalam plasma menggunakan faktor koagulase darah yang dimilikinya. Koagulase merupakan salah satu faktor virulensi bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini juga menghasilkan eksotoksin sitolitik, leukosidin dan *exfoliatin* yang dapat merusak sel hospes (Soedarto, 2015).

#### b. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Soedarto (2015) diuraikan sebagai berikut:

Domain : Bacteria

Kingdom : Eubacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

c. Pertumbuhan dan Pemiakan

*Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan baik pada media bakteriologi dengan suasana aerobik atau mikroaerofilik. Bakteri ini dapat tumbuh dengan cepat pada suhu 37°C, namun untuk pembentukan pigmen baik pada suhu kamar 20-35°C (Brooks dkk., 2005). Kondisi pH optimal yang diperlukan untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 7.4 (FK UNIBRAW, 2003). Koloni *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, halus, mengkilap dan berwarna abu-abu hingga kuning emas pada media padat (Brooks dkk., 2005). Sedangkan pada perbenihan cair bakteri ini tidak membentuk pigmen, namun menyebabkan kekeruhan yang merata (Gupte, 1990).

*Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada media-media yang digunakan di laboratorium bakteriologi, seperti:

1) *Nutrient Agar Plate* (NAP)

Media ini digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pembentukan pigmen. *Staphylococcus aureus* akan membentuk pigmen berwarna kuning keemasan pada media ini.

2) *Blood Agar Plate* (BAP)

Media ini rutin digunakan sebagai media pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Koloni yang tumbuh pada media ini akan

tampak lebih besar dan pada galur ganas akan terlihat zona hemolisis yang jernih di sekitar koloni bakteri (FK UNIBRAW, 2003).

Media yang mengandung asam amino dan vitamin-vitamin, seperti *threonin*, asam nikotinat dan biotin diperlukan untuk membiakkan *Staphylococcus aureus*. Isolasi primer *Staphylococcus aureus* dari infeksi campuran yang berasal dari tinja atau luka, diperlukan media yang mengandung NaCl dengan konsentrasi tinggi (7.5%) atau media yang mengandung polimiksin (*Polymixin Staphylococcus medium*) (FK UNIBRAW, 2003).

d. Patogenitas

*Staphylococcus* sp. dibagi menjadi 4 kelompok. Jenis yang menyebabkan penyakit pada manusia yaitu kelompok I, II atau III. Kelompok IV merupakan jenis Stafilokokus pembuat enterotoksin. Sedangkan infeksi di rumah sakit biasanya disebabkan oleh kelompok I atau III (Gupte, 1990).

Infeksi yang paling sering disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah infeksi yang biasanya menimbulkan pembentukan abses atau lesi terlokalisasi dan bernanah. Kulit dan struktur-struktur kulit yang berhubungan merupakan tempat yang sering terjadi lesi. Lesi tersebut dapat menyebabkan borok, jerawat, bisul pada kulit. *Staphylococcus aureus* dapat menginfeksi jaringan dan organ dalam, seperti menyebabkan *pneumonia*, osteomielitis (abses pada tulang dan

sumsum tulang), endokarditis (radang pada endokardium), sistitis (radang pada kandung kemih), pielonefritis (radang pada ginjal) dan enteritis stafilokokus. Enteritis stafilokokus terjadi karena adanya cemaran enterotoksin pada makanan (Cappuccino dan Sherman, 2014).

*Staphylococcus aureus* menghasilkan berbagai macam produk akhir metabolisme dan ada yang memiliki peran dalam patogenitas. Produk akhir metabolisme *Staphylococcus aureus* yang berperan dalam patogenitas adalah koagulase, leukosidin, hemolisin dan enterotoksin. Koagulase dapat menyebabkan pembekuan darah, leukosidin mampu melisiskan sel-sel darah putih, hemolisin aktif melawan sel-sel darah merah dan enterotoksin bertanggungjawab atas suatu tipe gastroenteritis (Cappuccino dan Sherman, 2014).

## 2. Media Pertumbuhan Bakteri

Mikroorganisme membutuhkan nutrien-nutrien dasar dan faktor-faktor fisik tertentu untuk bertahan hidup. Berbagai macam media yang ada di laboratorium menyediakan kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan sel-sel mikroba.

### a. Kebutuhan Nutrisi

#### 1) Karbon

Karbon merupakan nutrien 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 dapat tumbuh pada media yang hanya mengandung senyawa anorganik. Organisme ini menggunakan karbon anorganik dalam bentuk karbon dioksida.

b) Heterotrof

Organisme ini dapat tumbuh pada media yang mengandung senyawa organik, terutama glukosa (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. *Cyanobacteria (blue green alga)* merupakan bakteri yang menggunakan nitrogen melalui proses fiksasi (FK UNIBRAW, 2003).

3) Unsur non-logam

Sulfur diperlukan bakteri untuk sintesis protein bersama dengan nitrogen. Pembentukan asam nukleat DNA dan RNA

diperlukan fosfor dan nitrogen. Fosfor juga dibutuhkan bakteri untuk sintesis ATP.

a) Sulfur

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

Sumber fosfor diperoleh dari senyawa fosfat (FK UNIBRAW, 2003).

4) Unsur logam

Ion logam seperti  $Ca^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$  dan  $Fe^{+3}$  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 ini 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. Pembentukan sistem enzim aktif diperlukan koenzim dan vitamin merupakan sumber koenzim. 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 (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 ada dua, yaitu:

##### a) Fototrof

Sumber energi bagi mikroorganisme tipe ini adalah energi radiasi.

##### b) Kemotrof

Sumber energi bagi mikroorganisme tipe ini adalah oksidasi senyawa kimia (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### b. Macam-macam Media Pertumbuhan Bakteri

##### 1) Media Selektif

Media selektif digunakan untuk mengisolasi kelompok bakteri yang spesifik. Media ini memudahkan untuk isolasi bakteri tertentu karena mengandung zat-zat kimia yang dapat menghambat pertumbuhan suatu jenis bakteri dan membantu pertumbuhan bakteri lainnya. Media ini berfungsi untuk membedakan kelompok-



kelompok organisme berdasarkan morfologi dan sifat biokimia, setelah proses inokulasi dan inkubasi akan terlihat perubahan karakteristik pada tampilan pertumbuhan bakteri atau media di sekeliling koloni. Hal ini menunjukkan adanya diferensiasi (Cappuccino dan Sherman, 2014). Contoh media selektif antara lain:

a) Agar Garam Manitol

Media ini dapat menghambat sebagian besar pertumbuhan bakteri selain stafilokokus karena mengandung konsentrasi garam yang tinggi, yaitu NaCl 7.5%. Media Agar Garam Manitol mengandung karbohidrat manitol yang dapat difermentasikan oleh beberapa stafilokokus. Media ini juga mengandung fenol merah yang merupakan suatu indikator pH untuk mendeteksi asam hasil fermentasi manitol oleh stafilokokus. Bakteri tersebut akan menunjukkan zona kuning disekitar koloninya, sedangkan stafilokokus yang tidak memfermentasikan manitol tidak akan menghasilkan perubahan warna (Cappuccino dan Sherman, 2014).

b) Agar *MacConkey*

Media ini mengandung garam empedu dan kristal violet yang dapat menghambat pertumbuhan organisme Gram positif dan menumbuhkan organisme Gram negatif. Media Agar *MacConkey* mengandung substrat laktosa dan indikator pH

merah netral untuk membedakan bakteri yang mampu memfermentasi laktosa (Cappuccino dan Sherman, 2014).

c) Agar Eosin-Metilen Biru (*Levine*)

Media ini mengandung laktosa, pewarna eosin dan metilen biru untuk membedakan bakteri yang dapat memfermentasi laktosa dengan yang tidak. Media ini juga dapat digunakan untuk identifikasi *Escherechia coli*. Koloni bakteri ini akan berwarna biru hitam dengan kilap hijau metalik yang disebabkan oleh asam yang dihasilkan sehingga mengendapkan pewarna ke permukaan pertumbuhan. Koloni bakteri tidak akan berwarna atau transparan jika bakteri tersebut tidak dapat memfermentasikan laktosa. Media ini menghambat organisme Gram positif secara parsial sehingga pertumbuhan bakteri Gram negatif lebih melimpah (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Media Diperkaya

Media diperkaya merupakan media yang telah ditambah bahan-bahan bernutrisi tinggi, seperti darah, serum atau ekstrak khamir untuk tujuan kultivasi organisme selektif (Cappuccino dan Sherman, 2014). Media *Blood Agar Plate* (BAP) merupakan salah satu contoh dari media diperkaya.

Media *Blood Agar Plate* (BAP) merupakan media yang sering digunakan sebagai media kultur bakteri dan untuk membedakan

bakteri berdasarkan sifat hemolisisnya (Anand, 2000). Darah yang ditambahkan dalam media ini merupakan bahan pengayaan untuk kultivikasi organisme selektif, seperti Streptokokus dan Stafilokokus. Media ini memungkinkan terjadinya sifat hemolitik dari beberapa mikroorganisme (Cappuccino dan Sherman, 2014).

Media BAP yang umum digunakan dan menjadi standar adalah media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan penambahan darah domba. Media tersebut mampu menumbuhkan bakteri secara maksimal. Penggunaan media *Blood Agar Plate* (BAP) darah domba dinilai kurang ekonomis untuk negara berkembang seperti Indonesia. Selain itu, Indonesia memiliki iklim tropis yang kurang cocok untuk pemeliharaan domba (Yeh dkk., 2009).

Media agar darah manusia merupakan media agar darah yang dibuat dengan penambahan darah manusia. Darah manusia yang digunakan biasanya tidak mengalami proses pencucian eritrosit sehingga kandungan antibodi, komplemen, antikoagulan sitrat, antigen serta protein globulin masih tinggi (Sumilih, 2012). Tidak terdapat perbedaan yang bermakna untuk kuantitas koloni pada media agar darah manusia dan domba menurut penelitian Nurhidayanti (2019). Sedangkan menurut hasil penelitian Djannatun (2008), jumlah koloni *Streptococcus pyogenes* lebih banyak tumbuh di media agar darah manusia dibandingkan dengan darah domba. Hal tersebut terjadi karena *Streptococcus pyogenes*

merupakan bakteri yang tidak membutuhkan darah untuk pertumbuhannya, namun dengan penambahan darah pada media akan menambah nutrisi sehingga bakteri tumbuh subur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan media agar darah manusia mengisolasi bakteri lebih baik dibandingkan media agar darah domba.

### 3. Darah

#### a. Komposisi Darah Domba

Darah terdiri atas sel-sel darah (korpuskel) dan plasma darah dengan perbandingan 45% sel-sel darah terhadap 55% plasma. Sel-sel darah terdiri atas sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan trombosit. Warna merah pada sel darah merah terjadi karena adanya hemoglobin, semua sel ini disuspensikan dalam plasma yang berwarna kuning hingga tidak berwarna. Plasma pada domba dan kambing umumnya tidak berwarna dan hanya sedikit kekuningan, namun pada sapi atau kuda plasma akan tampak lebih gelap warnanya (Adriani dkk., 2010).

Plasma darah merupakan cairan bening kekuningan yang masih mengandung faktor pembekuan. Umumnya terdiri atas 91% air dan 9% protein, termasuk protein faktor pembekuan darah. Oksigen, nitrogen, karbondioksida, albumin, globulin, fibrinogen, enzim, antibodi, hormon, urea, asam urat, mineral, glukosa, gliserin, asam lemak, asam

amino, kolesterol dan sel-sel darah putih juga terdapat di dalam plasma (Adriani dkk., 2010).

Eritrosit merupakan sel darah yang paling besar volumenya, yaitu 99% dari sel darah secara keseluruhan sedangkan leukosit hanya 0.6-1%. Jumlah eritrosit dan leukosit bervariasi antar spesies ternak. Sel-sel darah dibuat di sumsum tulang merah. Eritrosit berfungsi untuk mengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh. Ternak yang hidup di dataran tinggi akan memiliki eritrosit lebih banyak (Adriani dkk., 2010).

#### b. Komposisi Darah Manusia

Darah merupakan bagian penting dari sistem transport. Darah merupakan jaringan berbentuk cairan yang terdiri atas dua bagian besar, yaitu:

##### 1) Plasma darah

Plasma darah atau serum merupakan bagian cair dari darah, tergantung bagaimana cara memperolehnya. Plasma atau serum mengandung bermacam-macam zat, seperti glukosa, albumin, globulin, fibrinogen, kolesterol, amilase, transaminase, insulin, adrenalin, zat besi (Fe), kalium (K), vitamin A, vitamin K, urea, asam urat, kreatinin, keratin dan bilirubin (Depkes RI, 1989).

Sekitar 200-300 gram protein pada tubuh individu berbentuk koloid dan mempengaruhi kekentalan (viskositas) darah. Albumin merupakan protein plasma yang jumlahnya paling besar. Protein

ini berperan dalam transport berbagai bahan kimia, seperti iodium ( $I_2$ ), tembaga (Cu) dan besi (Fe), kortison, dan lain-lain. Globulin berfungsi untuk pembentukan antibodi. Fibrinogen berfungsi dalam pembekuan darah. Darah yang membeku disebabkan oleh perubahan fibrinogen menjadi fibrin, kemudian akan terlihat cairan berwarna kekuning-kuningan yang disebut serum. Serum adalah plasma yang fibrinogennya telah diambil atau dihilangkan. Protein plasma berfungsi untuk menstabilkan darah dan mencegah pengendapan sel-sel darah merah (Depkes RI, 1989).

## 2) Bagian korpuskuli

Bagian korpuskuli terdiri dari, sel darah putih (leukosit), sel darah merah (eritrosit), dan sel pembeku darah (trombosit) (Depkes RI, 1989).

## c. Donor Darah

Donor darah hanya boleh dilakukan oleh orang yang berada dalam kondisi kesehatan yang baik. Riwayat kesehatan calon donor harus dievaluasi sebelum melakukan donor darah. Donor darah tidak harus dilakukan apabila terdapat keraguan tentang kesesuaian calon donor. Setiap tindakan donor darah harus ada konsultan medis yang bertanggung jawab terhadap pendonor (Kiswari, 2014).

Pengumpulan darah harus dilakukan dengan teknik aseptik menggunakan sistem tertutup dan *venepuncture* steril tunggal. Teknik aseptik harus dilakukan untuk anestesi lokal. Peralatan untuk pungsi

vena harus dalam kondisi steril dan sekali pakai. Bahan yang digunakan untuk pungsi vena harus dipastikan steril sebelum digunakan. Darah tersebut kemudian dimasukkan dalam kantung bebas pirogen dan steril yang mengandung antikoagulan. Petunjuk produsen mengenai penyimpanan, penggunaan dan berakhirnya tanggal paket di luar kontainer kantung darah yang telah dibuka dan disegel kembali harus ditaati (Kiswari, 2014).

Darah yang diperoleh dari donor sebanyak 420 ml akan dimasukkan dalam kantung yang sudah berisi 120 ml sitrat-fosfat-dekstrose adenin (CPD-adenin). Sitrat-fosfat-dekstrose adenin adalah larutan yang dapat mengawetkan darah dengan baik (Jones dan Wickramasinghe, 1995). Sitrat mencegah pembekuan darah dengan bergabung bersama kalsium darah (Hoffbrand dan Pettit, 1996). Darah yang disimpan pada suhu 4°C, 80% dari sel-selnya masih hidup hingga 28 hari. Persentase sel yang masih hidup akan menurun dengan cepat setelah disimpan selama 35 hari, maka dari itu darah tidak akan digunakan setelah 35 hari (Jones dan Wickramasinghe, 1995).

Transfusi dengan darah terkontaminasi bakteri jarang terjadi, namun apabila terjadi biasanya bersifat letal. Penjagaan yang ketat terhadap cairan, kontainer penyimpanan dan peralatan yang digunakan dalam keadaan steril mencegah terjadinya kontaminasi darah oleh bakteri. Kemungkinan sumber infeksi yang sulit disingkirkan, yaitu masuknya bakteri dari kulit selama proses donor darah meskipun telah

dilakukan desinfeksi sebelumnya. Stafilocokus merupakan kontaminan dari kulit yang biasanya masuk ke dalam darah, namun bakteri ini tidak dapat tumbuh pada suhu 4°C. Stafilocokus ditemukan dalam darah donor sekitar 2% pada 24 jam pertama. Bakteri ini akan mati selama proses penyimpanan dan jarang ditemukan setelah disimpan selama 3 minggu (Jones dan Wickramasinghe, 1995).

d. Produk Darah Donor

1) Darah Utuh (*Whole Blood*)

Satu unit darah (250-450 ml) dengan antikoagulan sebanyak 15 ml/100 ml darah. Darah dapat disimpan hingga 35 hari. Kandungan trombosit dan sebagian faktor pembeku jumlahnya akan menurun pada darah yang telah disimpan (Bakta, 2007).

2) Paket Sel Darah Merah (*Packed Red Cell*)

Paket Sel Darah Merah merupakan darah yang telah dipisahkan hingga hematokrit mencapai 70-80% yang berarti menghilangkan 125-150 ml plasma dari satu unitnya (Bakta, 2007). Produk ini dapat disimpan pada suhu 2-6°C selama 35 hari. Penyimpanan pada suhu tersebut dapat mencegah pertumbuhan bakteri (Bain, 2012).

3) Konsentrat Trombosit

Trombosit baik untuk disimpan pada suhu 20-24°C dan dijaga agar tetap bergerak pada alat penggoyang otomatis. Usia simpan trombosit hanya 5 hari (Bain, 2012).



#### 4) Plasma

Plasma beku segar (*fresh-frozen plasma*) merupakan plasma yang akan membeku saat masih segar. Hal ini disebabkan oleh faktor koagulasi yang terdapat dalam plasma. Plasma beku segar dapat digunakan untuk mengobati pasien dengan masalah pendarahan. Usia simpan plasma beku segar dapat mencapai 2 tahun apabila disimpan pada suhu  $-30^{\circ}\text{C}$  (Bain, 2012).

#### 4. Uji Viabilitas Bakteri *Staphylococcus aureus*

Menurut Volk dan Wheeler (1988), pertumbuhan bakteri dapat diukur dengan melakukan pengenceran biakan atau medium menggunakan air steril sampai didapatkan taraf bahwa 1 ml enceran mengandung 30 hingga 300 bakteri. Penghitungan jumlah kuman dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:

##### a. Penghitungan Jumlah Kuman Total

Penghitungan jumlah kuman total, yaitu dengan menghitung semua kuman, baik hidup maupun mati. Penghitungan jumlah kuman total dapat dilakukan dengan cara seperti di bawah ini:

- 1) Menghitung langsung di bawah mikroskop menggunakan kamar hitung.
- 2) Menghitung dalam alat penghitung elektronik yaitu dalam alat *Coulter Counter*.

- 3) Penghitungan langsung dengan menggunakan sediaan yang telah diwarnai dengan cara menyebarkan suatu jumlah tertentu pada suatu daerah dengan luas tertentu pada gelas alas.
  - 4) Membandingkan jumlah relatif dengan jumlah sel lain yang telah diketahui pada sediaan dari biakan campuran.
  - 5) Mengukur kekeruhan dengan *nephelometer* atau *absorptiometer*.
  - 6) Mengukur berat sel basah dan kering sesudah pemusingan dan penyaringan.
  - 7) Pengukuran kadar nitrogen secara kimiawi (Gupte, 1990).
- b. Penghitungan Kuman Hidup

Penghitungan kuman hidup yaitu hanya menghitung jumlah kuman yang hidup, dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pengenceran dan lempeng agar. Cara pengenceran yaitu menanam bakteri pada tabung dengan berbagai jenis pengenceran dan perhitungan jumlah kuman hidup dilakukan secara statistik dari jumlah tabung yang menunjukkan pertumbuhan. Cara ini tidak memberikan hasil yang tepat dan hanya dipergunakan untuk menghitung perkiraan jumlah kuman koliform pada air minum. Cara kedua yaitu dengan lempeng agar. Pengenceran-pengenceran yang telah dilakukan kemudian ditanamkan pada perbenihan padat, di permukaan lempeng agar sebagai agar tuang. Perkiraan jumlah kuman yang hidup dapat diketahui dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media agar padat setelah diinkubasi (Gupte, 1990).

Pertumbuhan bakteri dapat diukur menggunakan dua jenis parameter, yaitu:

a. Pengukuran Massa Sel (*Bacterial Density*)

Pengukuran massa sel yaitu pengukuran berat kering sel (protoplasma total) per unit volume biakan. Pengukuran berat kering sel sulit dilakukan secara langsung, biasanya dilakukan pengukuran secara tidak langsung dengan cara sebagai berikut:

1) Penentuan Kekeruhan (*Turbidity*)

Bakteri ditanam pada media perbenihan cair (*broth culture*) dan kekeruhan bakteri ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer atau kolorimeter. Kekeruhan bakteri dapat diukur dengan skala *McFarland*, yaitu menggunakan pedoman kekeruhan dari larutan BaSO<sub>4</sub> 1%.

2) Pengukuran *Nitrogen Content*

Pengukuran *Nitrogen Content* yaitu pengukuran volume sel sesudah dilakukan sentrifugasi.

Pengukuran massa sel biasanya digunakan untuk pengukuran yang berkaitan dengan sifat biokimia, fisiologi dan nutrisi dari bakteri (FK UNIBRAW, 2003).

b. Pengukuran Jumlah Sel Bakteri

Pengukuran jumlah sel bakteri yaitu pengukuran jumlah sel per unit volume biakan yang dapat dilakukan secara langsung maupun tidak langsung.

1) Cara Langsung (*Total Direct Count*)

Cara langsung yaitu dengan menghitung jumlah total dari sel bakteri, baik yang hidup maupun yang mati.

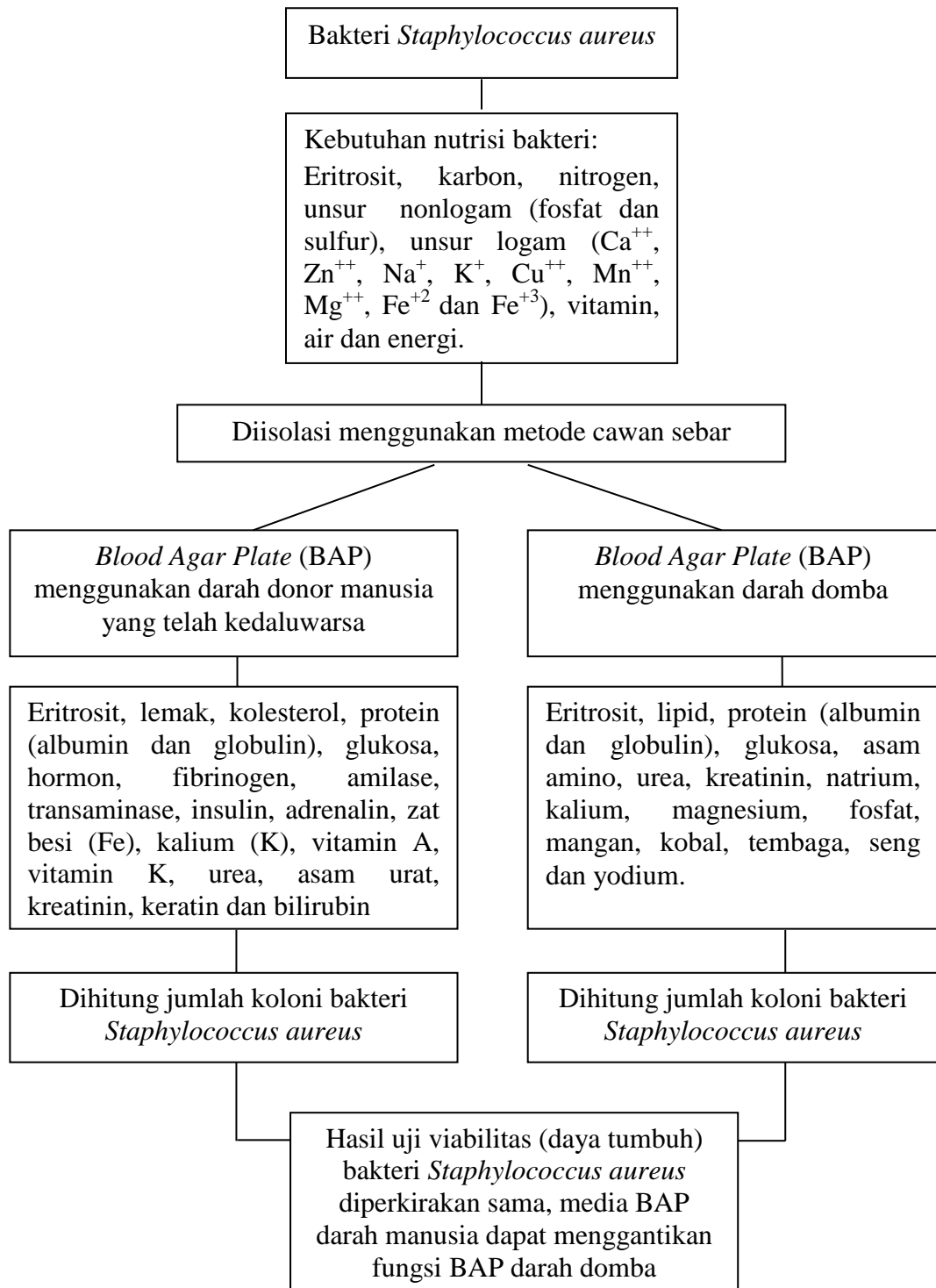
2) Cara Tidak Langsung (*Indirect Viable Count*)

Cara tidak langsung yaitu menghitung jumlah sel yang hidup saja. Populasi bakteri yang akan dihitung diencerkan terlebih dahulu dengan NaCl fisiologis, kemudian dilakukan penanaman sampel pada media agar cawan. Koloni yang tumbuh kemudian dihitung dan dianggap satu koloni berasal dari satu induk bakteri. Koloni bakteri yang dihitung, yaitu koloni bakteri yang tidak terlalu rapat dan terdiri dari 30-300 koloni per media agar cawan.

Cara ini lebih tepat digunakan untuk masalah yang berhubungan dengan pembelahan sel, genetik atau infeksi (FK UNIBRAW, 2003).

## B. Kerangka Teori

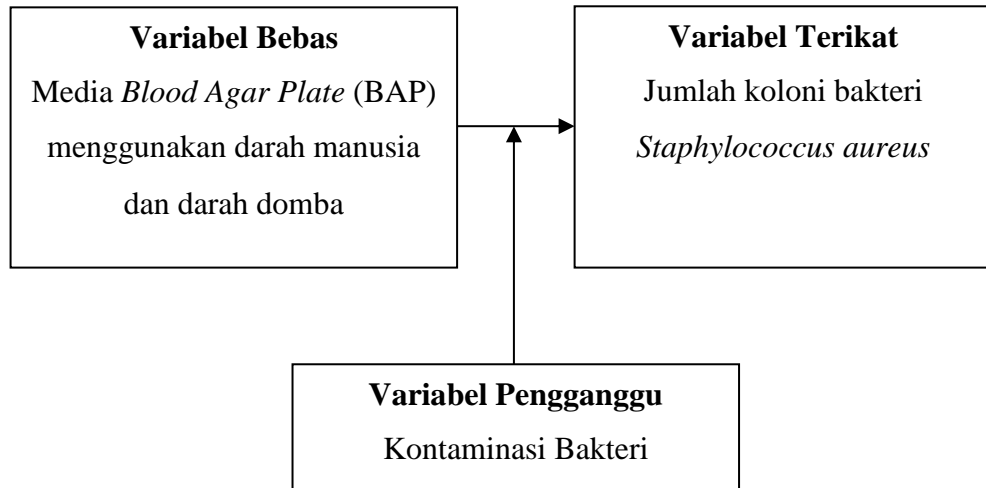
Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Teori

### C. Hubungan antar Variabel

Hubungan antar variabel penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan antar Variabel

### D. Hipotesis

Tidak ada perbedaan viabilitas bakteri *Staphylococcus aureus* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) menggunakan darah donor manusia yang telah kedaluwarsa dengan darah domba.