BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Mikroorganisme Udara

a) Definisi

Mikroorganisme dapat ditemukan dimana-mana termasuk di udara. Udara bukan medium tempat mikroorganisme tumbuh, tetapi udara merupakan media pembawa partikulat, debu dan tetesan cairan yang menjadi sumber hidup mikroba. Jumlah dan tipe mikroorganisme yang mencemari udara ditentukan oleh sumber pencemaran di dalam lingkungan. Misalnya, dari saluran pernafasan manusia yang disemprotkan memalui batuk dan bersin serta partikel – partikel debu yang diedarkan oleh aliran udara. Mikroorganisme udara ada karena partikel debu yang terbawa angin, selain itu butir-butir air juga dapat menjadi tempat menempel setelah itu terbawa angin hingga mengalami proses penguapan. Ketika butir-butir air ini menguap, mikroorganisme yang menempel pada butir air tersebut kemudian tersebar. Mikroorganisme bisa terbawa di udara sejauh beberapa meter atau beberapa kilometer dan sebagian segera mati dalam beberapa detik. Mikroorganisme lain bahkan ada yang dapat bertahan hidup hingga berminggu-minggu bahkan berbulan-bulan. Ketahanan mikroorganisme di udara tergantung keadaan di sekelilingnya yang mencakup keadaan atmosfer, kelembaban, cahaya matahari dan suhu (Pelczar dan Chan, 1988).

Kelompok mikroorganisme yang paling banyak tersebar di udara bebas adalah bakteri, jamur (termasuk di dalamnya ragi) dan juga mikroalga. Belum ada mikroorganisme yang habitat aslinya di udara. Mereka terdapat dalam jumlah yang relatif kecil bila dibandingkan dengan di air atau di tanah. Mikroorganisme udara dapat dipelajari dalam dua bagian, yaitu mikroorganisme udara di luar ruangan dan mikroorganisme udara di dalam ruangan. Mikroorganisme paling banyak ditemukan di dalam ruangan (Waluyo, 2009).

b) Faktor yang menentukan jumlah dan jenis mikroorganisme yang mendiami udara

Menurut Pelczar tahun 1988, beberapa faktor yang menentukan jumlah dan jenis mikroorganisme yang mendiami udara adalah:

1) Sumber mikroorganisme (tanah, laut, bersin dan lain-lain).
2) Ketahanan jenis mikroorganisme tersebut terhadap kondisi fisik seperti suhu, kelembaban dan cahaya matahari.
3) Jumlah dan aktivitasnya.
4) Lingkungan luar (kondisi cuaca dan ketinggian tempat).

c) Jenis bakteri dan jamur yang berada di udara

Bakteri yang sering ditemukan pada umumnya dari jenis basil gram positif baik berspora maupun non spora, basil gram negatif dan kokus gram positif. Bakteri yang biasanya terdapat dalam mulut dan tenggorokan orang normal seperti *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp ditemukan di udara melalui batuk, bersin, dan berbicara. Beberapa jenis lain yang terdeteksi

mencemari udara antara lain: *Pseudomonas* sp, *Klebsiella* sp, *Proteus* sp, *Bacillus* sp, dan golongan jamur (Waluyo, 2007).

2. Kualitas Mikrobiologi Udara

Kualitas mikroorganisme dapat berasal dari dalam dan luar lingkungan. Kualitas udara dalam ruangan (*Indoor Air Quality*) adalah udara di dalam suatu bangunan yang ditempati untuk satu periode waktu sekurang-kurangnya 1 jam oleh orang dengan berbagai kondisi kesehatan (Suharyo, 2009). Menurut *Environmental Protectional Agency of America* (EPA) dalam Lisyastuti (2010), polusi dalam ruangan menempati urutan ketiga sebagai faktor lingkungan beresiko terhadap kesehatan manusia, dengan kualitas udara dalam ruangan 2-5 kali lebih buruk daripada udara di luar ruangan.

Menurut National Institute Of Occupational Safety and Health (NIOSH) 1997, penyebab timbulnya masalah kualitas udara dalam ruangan pada umumnya disebabkan beberapa hal, yaitu kurangnya ventilasi udara (52%), adanya sumber kontaminan dari luar ruangan (10%), kontaminasi dari dalam ruangan (16%), mikroba (5%), bahan material bangunan (4%), dan lain-lain (13%). Mikroorganisme yang tersebar didalam ruangan disebut bioaerosol. Bioaerosol di dalam ruangan berasal dari lingkungan luar atau kontaminasi dari dalam ruangan (Fitria, Wulandari, Hermawati, &Susanna, 2008). Penularan mikroorganisme kepada manusia terjadi dengan mekanisme tertentu, misalnya dengan tiupan angin, tetesan air atau droplet, percikan batuk atau bersin, percakapan, dan kontak dengan permukaan tanah (Abdullah & Hakim, 2011).

3. Fase Pertumbuhan Bakteri

Apabila bakteri ditanam pada media perbenihan yang sesuai dan pada waktu tertentu diobservasi (dihitung jumlah bakteri yang hidup), pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri tersebut dapat dibagi menjadi beberapa fase sebagai berikut:

a) Fase Penyesuaian *(Lag Phase)*

Fase penyesuaian merupakan periode laten dari bakteri yang ditanam pada media perbenihan yang sesuai atau waktu yang diperlukan untuk adaptasi terhadap lingkungannya yang baru. Rentang waktu fase penyesuaian tergantung dari fase pertumbuhan bakteri saat diinokulasikan ke media perbenihan yang baru dan tergantung pula pada adanya bahan yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri. Pada fase penyesuaian ini, belum terjadi pertumbuhan dan perkembangbiakan (Tim Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

Fase ini terjadi beberapa keadaan :

1) Peningkatan ukuran sel
2) Peningkatan sintesis protoplasma
3) Peningkatan aktivitas metabolisme dan kepekaan terhadap bahan fisis dan bahan kimia
4) Peningkatan asam ribonukleat yang sangat penting dalam sintesis protein.

b) Fase Pembelahan *(Exponential Phase)*

Pada fase ini, pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri terjadi sangat cepat, baik metabolisme maupun pembelahan selnya sehingga

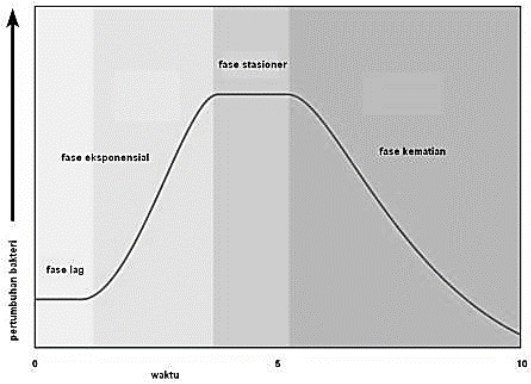
komposisi sel bakteri dan bahan metabolitnya relatif konstan dalam jangka waktu tertentu. Pada fase ini juga bakteri menjadi sangat peka terhadap pengaruh bahan anti mikroba dan radiasi. Fase pembelahan akan tetap dipertahankan sampai terjadi keadaan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Tim Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

c) Fase Stationer *(Stationary Phase)*

Fase stationer merupakan kecepatan pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri mencapai titik terendah. Hal ini disebabkan kondisi lingkungan telah berubah dan tidak menguntungkan bagi pertumbuhan maupun perkembangbiakan bakteri, dimana nutrisi telah habis dan terjadi penumpukan hasil metabolisme yang bersifat toksik. Jumlah sel bakteri yang hidup tampak konstan, karena jumlah sel yang baru terbentuk seimbang dengan jumlah sel yang mati. Panjang fase ini bervariasi (Tim Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

d) Fase Kematian *(Decline/Death Phase)*

Pada fase ini, terjadi peningkatan kematian sel bakteri sehingga terjadi penurunan populasi bakteri. Kecepatan pertumbuhan menjadi negative. Sedikit sekali bakteri yang masih hidup (Tim Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).



Gambar 1. Fase Pertumbuhan Bakteri

(Suriawiria, U, 1993).

4. Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

Medium pertumbuhan yang baik harus mengandung seluruh nutrient yang dibutuhkan oleh organisme untuk perkembangbiakannya dan sejumlah factor seperti nutrient, pH, temperature, pencahayaan dan kelembaban yang harus terkontrol (Jawetz dkk, 2001).

a. Nutrien

Nutrien dalam media pembenihan harus mengandung seluruh elemen yang penting untuk sintesis biologik organisme baru. Pada umumnya harus ada hydrogen donor dan penerima sekitar 2 g/L, sumber karbon sekitar 1 g/L, sumber nitrogen sekitar 1 g/L, sumber mineral seperti belerang dan fosfor sekitar 50 mg/L, elemen *trace* sekitar 0,1 – 1 mg/L, factor pertumbuhan asam amino, purin, pirimidin sekitar 50 mg/L serta vitamin sekitar 0,1 -1 mg/L (Jawetz dkk, 2001).

b. Konsentrasi Ion Hidrogen (pH)

Kebanyakan organisme (*neutralophiles*) tumbuh baik pada pH 6,0 – 8,0 meskipun beberapa bentuk *(acidophils)* memiliki pH optimal 3,0 dan bentuk *(alkalophiles)* memiliki pH optimal 10,5 (Jawetz dkk, 2001).

c. Temperatur

Spesies mikroba yang berbeda sangat beragam kisaran temperature optimalnya untuk tumbuh. Kebanyakan organisme adalah berbentuk *mesophilic* yang optimal pada suhu 30°C. Bentuk *psychrophilic* tumbuh baik pada suhu 15-20°C, Bentuk *mesophilic* tumbuh baik pada suhu 30-37°C, Bentuk *thermophilic* tumbuh baik pada suhu 50-60°C. batas kisaran temperature yang dapat ditoleransi oleh setiap spesies berhubungan erat dengan stabilitas panas keseluruhan protein spesies yang diukur dalam ekstrak sel (Jawetz dkk, 2001).

d. Pencahayaan

Cahaya dalam ruangan dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Paparan cahaya dengan intensitas tinggi dapat mengakibatkan fatal bagi bakteri. Bakteri yang mengalami radiasi akan terjadi perubahan hingga kerusakan pada komponen organik sel sehingga menyebabkan kematian (Shrieve, 2011).

e. Kelembaban

Ruangan dengan kelembaban diatas 75% akan menyebabkan berkembangnya bakteri, sedangkan pengurangan kadar air atau kelembaban dari protoplasma menyebabkan kegiatan metabolism dari bakteri terhenti (Fitria, dkk., 2008).

5. Pengambilan Sampel Kuman Udara

Sampling mikrobiologis udara dapat diperoleh dengan menggunakan metode *setting plates* (perletakkan lempeng agar) dan metode mekanik *volumetric air sampling.*

a) Metode Pasif (Metode *setting plates)*

Merupakan salah satu teknik yang dapat digunakan untuk analisis mikroorganisme udara. Teknik ini dilakukan dengan memaparkan cawan petri yang berisi media agar yang dibuka sehingga permukaan agar terpapar udara dalam waktu yang telah ditentukan. Setelah itu, cawan petri diinkubasi dan akan tampak pertumbuhan sejumlah koloni . masing-masing koloni menunjukkan bakteri yang yang jatuh di permukaan agar. Dengan pengulangan *setting plate* dalam beberapa waktu tertentu dapat digunakan untuk memperoleh suatu dugaan adanya kontaminasi udara dan gambaran tentang jenis bakteri udara di dalam ruangan tersebut (Pasquarella, 2000).

Koloni bakteri dihitung menggunakan metode hitungan cawan. Syarat perhitungan dengan metode cawan menggunakan *standart plate count* (SPC) sebagai berikut :

1) Cawan yang dipilih dan dihitung memiliki jumlah koloni 30-300 CFU.
2) Koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni besar dimana jumlah koloni diragunakn dapat dihitung sebagai satu koloni.
3) Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai satu garus tebal dihitung sebagai satu koloni.

b) Metode aktif

Metode pengmbilan udara secara aktif adalah dengan memaksa udara bergerak memasuki suatu alat untuk menjebak partikel yang terkandung di dalamnya. Terdapat tiga prinsip dalam pengumpulan sampel udara secara aktif, yaitu *impingement, impaction* dan *filtration.*

1) Impingemet (penumbukan pada cairan)

Dasar Teknik ini adalah dengan menjebak partikel udara saat gelembung udara dilewatkan dala cairan. Alat yang digunakan disebut *impingement sampler.* Alat ini diranvang untyk mengambil sampel partikel udara atau gas lain dengan cara menumbukkan (*collision*) dengan permukaan cairan dan partikel udara akan masuk ke dalam cairan tersebut. Faktor yang mempengaruhi kematian organisme yang telah terlarut adalah lama waktu pengambilan sampel. Jika waktu pengambilan diperpanjang maka akan memperbesar evaporasi cairan dan dapat menonaktifkan mikroorganisme yang telah terjebak (Pradhika, Indra, 2018).

2) *Impaction*

Dasar Teknik *impaction* adalah menempelkan partikel udara pada permukaan padat media dengan cara menumbukkannya. Teknik ini biasanya menggunakan media agar padat sebagai substrat langsung penempelan partikel udara. Alat yang digunakan disebut *impact sampler.* Alat ini dirancang untuk mengambil sampel partikel di udara atau gas lain dengan cara menumbukkan (*collision)* dengan permukaan padat.

Metode ini dapat dikategorikan menjadi tiga alat yaitu *sieve impactor, slit impactor* dan *centrifugal impactor* (Pradhika, Indra, 2018).

a) Alat *Sieve Impactor*

Mekanisme kerjanya dengan menarik udara masuk ke dalam pelat lempeng yang memiliki lubang-lubang kecil dengan diameter yang diketahui dan partikel tersebut akan ditumbukkan ke permukaan agar yang telah dipasang di bawahnya. Alat ini dapat dioperasikan bertumpuk dengan saringan berbeda. Kecepatan aliran udara yang terjadi semakin ke bawah semakin cepat sehingga secara bertahap partikel yang tertabrak dan menempel menjadi semakin kecil. Partikel udara yang besar akan terkumpul pada tingkat 1 dan partikel udara yang tidak memiliki potensial tumbukan yang cukup akan mengisi tingkat dibawahnya (Andersen, 1958)

b) Alat *slit impactor*

Prinsipnya sama dengan Alat *sieve impactor* yaitu dengan menarik udara masuk ke dalam pelat lempeng yang memiliki lubang-lubang kecil kemudian ditumbukkan ke permukaan agar yang telah dipasang di bawahnya. Pada *slit impactor* terdapat celah yang berguna sebagai lubang sempit pemasukan udara kemudian partikel udara ditumbukkan ke permukaan agar yang berputar. Alat *centrifugal impactor* menggunakan pola aliran udara yang berputar untuk mendepositkan partikel udara yang disedot ke dalam alat berdasarkan gaya sentrifugasinya. Menurut Maier *et.al.* (2000) cara kerja metode ini yaitu udara masuk ke dalam alat melalui pipa dengan sudut tertentu sehingga menimbulkan pola udara tangensial. Udara yang masuk akan

berputar pada permukaan corong sehingga menimbukan sedimentasi partikel udara.

c) *Filtration*

Filtrasi adalah pengumpulan partikel yang terlarut dalam gas atau udara melewati medium berpori. Metode ini menggunakan prinsip menyaring partikel udara berdasarkan ukurannya menggunakan kertas membran filter. Partikel udara yang berukuran lebih besar daripada pori akan tersaring. Keunggulan metode ini adalah sangat akurat dalam menangkap partikel udara namun tidak direkomendasikan untuk menghitung sel vegetatif bakteri karena terdapat kemungkinan sel akan mengalami kekeringan dan mati selama pengambilan sampel berlangsung (Pradhika, Indra, 2018).

6. Perhitungan Angka Kuman Udara

a. Menghitung jumlah bakteri secara keseluruhan (*Total Cell Count*)

Menghitung semua bakteri baik yang hidup maupun yang mati menggunakan cara :

1) Mikroskopik

Pada cara ini dihitung jumlah bakteri dalam satuan isi yang sangat kecil, untuk itu digunakan kaca objek khusus yang bergaris (*petroff - Hauser*) berbentuk bujur sangkar. Cara ini hanya dapat digunakan untuk cairan yang mengandung bakteri dalam jumlah tinggi (Lay, 2004).

2) Kekeruhan

Dasar teknik ini adalah banyaknya cahaya yang diabsorbsi sebanding dengan banyaknya sel bakteri pada batas- batas tertentu. Pada umumnya untuk menghitung dengan cara ini digunakan turbidimetri (Lay, 2004).

b. Menghitung hanya bakteri yang hidup

1) *Standart Plate Count*

Pengenceran dilakukan dengan menggunakan sejumlah botol pengencer yang diisi sampel dan aquades steril. Agar cair didinginkan sampai suhu sekitar 440C dan baru kemudian dituangkan kedalam cawan petri setelah agak membeku cawan dieramkan selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C (Lay, 2004).

2) *Plate Count*

Sampel dipipet dimasukkan kedalam cawan petri kosong steril, dituang kedalam media agar yang mencair, dengan suhu sekitar ± 45°C lalu dihomogenkan dengan hati-hati sehingga sampel dan media tercampur rata. Dibiarkan memadat (Lay,2004).

3) *Colony Counter*

Penghitungan jumlah koloni bakteri. Koloni yang tumbuh setelah diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37ºC dihitung pada media dengan menggunakan koloni counter dengan satuan CFU/m^3. Koloni kuman yang tumbuh setelah diinkubasi dihitung dengan persyaratan sebagai berikut:

a) Koloni besar, kecil, menjalar dihitung 1 koloni karena dianggap berasal dari satu bakteri.

b) Penghitungan dapat dilakukan secara manual dengan memberi tanda titik pada koloni yang sudah dihitung. Menurut Permenkes indeks angka kuman yang didapat diberi satuan CFU/m^3.

4) Agar Sebar (*Spread Plate*)

Sebanyak 0,1 ml sampel dimasukkan pada permukaan agar yang sudah memadat dalam cawan petri. Kemudian sampel diratakan diatas permukaan media tersebut dengan bantuan alat perata atau spreader (Lay, 2004).

7. Pengendalian Mikroorganisme

a. Definisi

Pengendalian mikroorganisme adalah segala kegiatan yang dapat menghambat, membasmi atau menyingkirkan mikroorganisme. Alasan utama untuk mengendalikan mikroorganisme yaitu mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme dapat disingkirkan, dihambat atau dibunuh dengan metode fisik dan kimia, dalam penerapannya masing-masing metode mempunyai keterbatasan sehingga dipilih sesuai kondisi (Volk dan Wheeler, 1998).

b. Metode pengendalian Mikroorganisme

1) Metode Fisik

a) Panas lembab

Penggunaan suhu tinggi digabung dengan kelembapan tinggi merupakan salah satu metode paling efektif untuk mematikan mikroorganisme. Panas lembab mematikan mikroorganisme dengan cara mengkoagulasikan protein-proteinnya. Panas lembab jauh lebih

cepat dan efektif daripada panas kering. Uap bertekanan merupakan panas dalam bentuk uap jenuh bertekanan yang digunakan dalam sterilisasi. Uap bertekanan menyediakan suhu jauh diatas titik didih sehingga pemanasan dapat berlangsung lebih cepat, menghasilkan kelembaban yang tinggi sehingga mempermudah koagulasi protein sel-sel mikroorganisme (Volk dan Wheeler, 1998).

b) Autoklaf

Autoklaf pada hakikatnya merupakan ruang uap berdinding rangkap yang diisi dengan uap jenuh bebas udara dan dipertahankan pada suhu serta tekanan yang ditentukan selama periode waktu tertentu. Dalam penggunaan autoklaf, mutlak perlu diusahakan agar seluruh udara di dalam ruang autoklaf tergantikan dengan uap jenuh. Apabila masih ada udara, maka suhu di dalam ruangan tersebut akan turun jauh dibawah suhu yang tercapai oleh uap jenuh murni pada tekanan yang sama. Pada umumnya autoklaf dijalankan pada tekanan 15 lb/in^2 (5 kg/cm^2) pada suhu 121^oC. waktu yang diperlukan untuk sterilisasi bergantung kepada sifat bahan yang disterilkan, tipe wadah dan volume bahan. Kekurangan dari metode ini adalah tidak efektif terhadap organisme yang ada dalam bahan yang kedap uap dan tidak dapat digunakan untuk benda-benda yang peka terhadap panas (Volk dan Wheeler, 1998).

c) Uap bebas atau air mendidih

Beberapa media bakteriologis dan zat kimia tidak dapat dipanaskan pada suhu diatas 100^oC tanpa menjadi rusak. Tetapi, bila

bahan-bahan tersebut dapat menahan suhu uap bebas (100°C) maka akan dapat disterilkan dengan metode ini. Sterilisasi dengan air mendidih menyebabkan sel-sel vegetatif mikroorganisme akan terbunuh dalam waktu 10 menit. Namun, beberapa spora bakteri dapat bertahan dalam kondisi ini. Merebus peralatan didalam air mendidih selama waktu yang singkat lebih memungkinkan untuk desinfeksi daripada sterilisasi (Volk dan Wheeler, 1998).

2) Panas kering

a) Oven atau udara panas

Sterilisasi dengan panas kering atau udara panas dianjurkan apabila penggunaan uap bertekanan tidak dikendaki atau apabila tidak dapat terjadi kontak antara uap bertekanan dengan benda yang akan disterilkan. Hal ini berlaku bagi perabotan laboratorium seperti cawan petri, pipet, serbuk dan sebagainya. Untuk mensterilkan peralatan yang terbuat dari gelas dibutuhkan suhu 160°C selama 2 jam. Kekurangan metode ini adalah dapat merusak bahan-bahan yang tidak tahan suhu tinggi dalam waktu lama (Volk dan Wheeler, 1998).

b) Pembakaran

Pembakaran bahan yang mengandung mikroorganisme berarti juga membasmi mikroorganismenya. Pembakaran merupakan cara yang digunakan untuk memusnahkan bangkai, hewan-hewan penelitian yang terinfeksi dan bahan terinfeksi lainnya. Kekurangan metode ini adalah ukuran pembakar yang dibutuhkan harus cukup besar untuk membakar muatan dengan segera dan sempurna dan juga metode ini dapat menimbulkan polusi udara (Volk dan Wheeler, 1998).

c) Tekanan osmotik

Osmosis ialah difusi melintasi membrane semipermeable yang memisalhkan dua macam larutan dengan konsentrasi solute yang berbeda. Proses ini cenderung untuk menyamakan konsentrasi solute pada kedua sisi membrane tersebut (Volk dan Wheeler, 1998).

3) Radiasi

a) Sinar X

Sinar X bersifat letal bagi mikroorganisme. Sinar X memiliki daya tembus yang tinggi, namun tidak praktis untuk digunakan sebagai metode rutin pengendalian mikroorganisme karena daya tembus yang besar sehingga perlu perlindungan sesuai standar (Dzen, S.M, dkk, 2003).

b) Radiasi Gamma

Radiasi gama lebih energetic daripada sinar X, dipancarkan dari isotop-isotop radioaktif tertentu. Sinar gama serupa dengan sinar X tetapi mempunyai panjang gelombang yang lebih pendek dan energinya lebih tinggi. Daya tembusya besar dan bersifat mematikan terhadap semua bentuk kehidupan termasuk mikroorganisme. Karenanya sinar gama lebih efisien daripada sinar X. Sinar gama lebih digunakan dalam sterilisasi bahan-bahan yang tebal serta besar (Dzen, S.M, dkk, 2003).

c) Radiasi Katode

Sinar katode merupakan electron-elektron yang berintensitas tinggi (jutaan volt) dipacu sehingga mencapai kecepatan yang teramat tinggi. Berkas electron yang kuat dan berkecepatan tinggi itu bersifat

mikrobisidial serta mempunyai pengaruh lain terhadap bahan biologi maupun non biologis. Pemacu electron ini digunakan untuk mensterilkan peralatan bedah, obat-obatan dan benda lain (Volk dan Wheeler, 1998).

4) Filtasi (Penyaringan)

a) Filtrasi membrane

Bahan filter merupakan suatu lapisan yang relatif tebal terbuat dari asbes, tanah diatomea, porselen atau kaca berpori. Ditahannya mikroorganisme pada lapisan filter bukan hanya disebabkan ukuran pori filter, melainkan disebabkan oleh kombinasi ukuran pori, sifat jaringan bahan berserat atau partikulat penyusun laposan saringan dan muatan listrik bahan. Filter membran terbuat dari ester selulose atau substansi polimerik lain dengan pori-pori berukuran tepat serta seragam. Filter atau saringan tipe ini dapat diproduksi dengan diameter pori yang dikehendaki dan lapisan saringan ini sangat tipis. Dalam penggunaanya, filter diletakkan pada suatu alas penyangga pada suatu unit filter. Metode ini banyak digunakan di laboratorium atau industri untuk mensterilkan bahan-bahan fluida (Volk dan Wheeler, 1998).

b) Filter “fiberglass” (HEPA)

Dikembangkan filter berefisiensi tinggi untuk menyaring udara berisikan partikel (*High Efficiency Particulate Air Filter* atau HEPA) telah memungkinkan dialirkannya udara bersih ke udara tertutup. Tipe filtrasi udara semacam ini bersama dengan system aliran udara laminar (laminar air flow) kini banyak digunakan untuk menyediakan udara yang bebas dari debu dan bakteri. Filter udara digunakan di dalam

ruangan transfer mikrobiologis untuk mencegah timbulnya kontaminasi pada area isolasi untuk mencegah penyebaran infeksi dan di dalam tuagan yang digunakan untuk merakit peralatan miniature karena kontaminasi oleh partikel-partikel bahkan sekecil bakteri dapat merusak dayaguna komponen peralatan (Rahayu dkk, 2017).

5) Pembersihan fisik

a) Ultrasonik

Gelombang suara berfrekuensi tinggi digunakan untuk memecahkan sel-sel mikroba serta menghilangkan mikroba dari peralatan dan pada tenik-teknik khusus pada diagnosis serta pembedahan. Pembersih ultrasonic yaitu unit-unit berisi cairan yang dilalui oleh gelombang suara. Seraya gelombang suara berfrekuensi tinggi itu menempuh perjalanannya melalui cairan, maka terbentuklah sejumlah besar gelombang kecil, yang telah mencapai ukuran tertentu menjadi kempis. Pembersih ultrasonic lebih efisien untuk membersihkan bahan organic dari peralatan dibandingkan dengan penyikatan secara mekanis (Volk dan Wheeler, 1998).

b) Pencucian

Mencuci atau menggosok dengan sabun merupakan cara fisik untuk menghilangkan mikroorganisme dari permukaan. Penggosokan akan melepaskan kotoran dari benda-benda dan dari kulit karena pergeseran. Sabun menghilangkan lapisan berminyak yang menghikat bakteri pada permukaan. Begitu lapisan tersebut lepas, maka mikroorganismenya pun terbilas oleh air mengalir (Volk dan Wheeler, 1998).

6) Metode Kimia

1) Larutan kimia

Larutan kimia yang sering digunakan sebagai desinfektan seperti senyawa fenol atau turunan fenol, senyawa halogen, alkohol, senyawa biguanid. Mekanisme kerja dari senyawa kimia tersebut dapat merusak membrane plasma, menyebabkan enzim inaktif dan denaturasi protein. Penggunaan senyawa tergantung kebutuhan dalam melakukan desinfeksi.

a) Fenol dan senyawa turunan fenol

Fenol (asam karbol) merupakan bahan desinfektan yang sekarang tidak digunakan lagi karena iritatif dan baunya menyengat. Kemudian dikembangkan senyawa turunan fenol (fenolat) yang bersifat kurang iritatif dengan daya antibakterial yang lebih tinggi. Mekanisme dari senyawa fenolat dengan merusak membran plasma, menyebabkan enzim inaktif dan denaturasi protein (Dzen, S.M, dkk, 2003).

b) Senyawa halogen

Iodin dan klorin memiliki efek antimikroba. Iodin merupakan antiseptic yang efektif dalam melawan bakteri, fungi dan beberapa virus. Mekanisme kerjanya berikatan dengan gugus asam amino tirosin yang merupakan komponen dari enzim dan juga mengoksidasi gugus sulfhidril dari asam amino tertentu. Klorin mempunyai efek germisidal di dalam air yang akan membentuk asam hipoklorit. Penggunaan klorin untuk desinfeksi air minum, kolam renang dan pembuangan (Dzen, S.M, dkk, 2003).

c) Alkohol

Alkohol efektif membunuh bakteri, fungi dan beberapa virus tetapi tidak mempengaruhi endospore. Mekanisme alkohol dengan merusak membran plasma, denaturasi protein dan melarutkan lipid. Alkohol yang sifatnya mudah menguap dan tidak meninggalkan residu menjadikan kelebihan dari zat ini. Senyawa alcohol yang digunakan untuk pengendalian mikroorganisme adalah etanol dan isopropanol (Dzen, S.M, dkk, 2003).

d) Logam berat dan senyawanya

Ion Perak (Ag), Merkuri (Hg), Tembaga (Cu) dan Zinc (Zn) memiliki efek germisidal atau antiseptic. Ion Perak dapat digunakan untuk desinfeksi kolam renang apabila pemakai kolam renang sensitive terhadap zat Klorin. Senyawa Merkuri digunakan sebagai anti-jamur pada bidang pengecatan. Ion Tembaga bersifat algasidal dan digunakan untu membunuh alga pada tandon air, kolam renang dan tangka ikan. Dan senyawa Zinc digunakan sebagai antiseptic pada mulut dan kulit dalam bentuk Zinc Klorin ($ZnCl_2$) dan Zinc Oksida (ZnO) (Dzen, S.M, dkk, 2003).

e) Desinfektan gas

Mekanisme kerja dari desinfektan gas adalah menyebabkan denaturasi protein oleh karena terjadi alkilasi gugus -SH, -COOH, -OH. Senyawa gas ini membunuh semua mikroba dan kemampuan penetrasinya sangat tinggi (Dzen, S.M, dkk, 2003).

2) Detergen

Detergen adalah senyawa yang menurunkan tegangan permukaan antar molekul pada suatu cairan (*surface active agent*). Detergen dapat terkonsentrasi pada permukaan suatu benda atau cairan karena memiliki gugus hidrokarbon yang larut lemak (berada pada membrane sel) dan gugus yang larut air (berada pada lingkungan air). Ada tiga jenis detergen yaitu detergen anionik, kationik dan non-ionik. Yang sering digunakan dalam bidang Kesehatan adalah detergen anionic dan detergen kationik (Dzen, S.M, dkk, 2003).

8. Sterilisasi Ruangan

a. Definisi

Sterilisasi adalah proses secara kimia atau fisika yang digunakan untuk membunuh semua bentuk kehidupan mikroorganisme, dan menghilangkan pencemaran oleh jasad renik baik hidup maupun mati (Dwidjoseputro, 1994).

b. Tujuan

Tujuan utama pengendalian mikroorganisme antara lain nencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme yang sering sebagai bakteri kontaminan, mencegah pembusukan dan perusakan bahan oleh mikroorganisme (Dwidjoseputro, 1994).

c. Metode Sterilisasi Ruangan

1) Desinfeksi

Desinfeksi adalah proses destruksi mikroba bentuk vegetative. Pengendalian mikroba secara desinfeksi dapat menggunakan bahan kimia, radiasi ultraviolet dan air mendidih. Desinfeksi dengan bahan

kimia dilakukan terhadap permukaan suatu benda mati (Dzen, S.M, dkk, 2003).

2) Antiseptik

Antiseptik merupakan aplikasi senyawa kimia yang bersifat antiseptik terhadap tubuh untuk melawan infeksi atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme dengan cara menghambat aktivitas mikroba (Dzen, S.M, dkk, 2003).

3) Pengendalian mikroba dengan filtrasi

Filtrasi adalah proses melewatkan cairan atau gas melalui suatu alat penyaring dengan pori-pori yang cukup kecil sehingga dapat menahan mikroba. Metode ini digunakan untuk bahan media pembiakan, enzim, vaksin, larutan antibiotic atau udara. Untuk sterilisasi ruangan biasanya digunakan filter udara berefiensi tinggi untuk menyaring udara yang berisikan partikel (High Efficiency Particulate Air Filter atau HEPA) memungkinkan dialirkannya udara bersih ke dalam ruangan tertutup dengan system aliran udara laminar (Laminar Air Flow) (Rahayu dkk, 2017).

4) Pengendalian mikroba dengan radiasi

Radiasi memberikan pengaruh yang bervariasi terhadap sel, bergantung pada panjang gelombang, intensitas dan lampu penyinaran. Bakteri dapat terbunuh dengan penyinaran sinar ultra violet (UV), sinar gamma dan sinar X. Bakteri yang berada di udara atau di dalam ruangan suatu benda yang terpapar sinar ultra violet akan mati (Tim Mikrobiologi Universitas Brawijaya).

9. Pengendalian Mikroba dengan Radiasi

Radiasi memberikan pengaruh yang bervariasi terhadap sel. Berbagai macam sinar dalam membunuh bakteri yaitu sinar matahari, sinar x, sinar gamma dan sinar ultra violet.

a. Sinar X

Radiasi sinar X memiliki beragam kegunaan dari radiasi untuk diagnostic pemeriksaan hingga sterilisasi ruangan. Sinar X mempunyai daya penetrasi yang sangat tinggi sehingga penggunaan metode ini harus disertai cara pengamanan yang khusus (Dzen, S.M, dkk, 2003).

b. Sinar Gamma

Sinar gamma mempunyai panjang gelombang kurang dari satu nm sehingga daya penetrasi sangat tinggi. Sinar gamma dapat menyebabkan terjadinya ionisasi molekul air sehingga terbentuk radikal hidroksil yang akan bereaksi dan merusak komponen organik sel khususnya DNA (Dzen, S.M, dkk, 2003).

c. Sinar ultraviolet (UV)

Sinar ultraviolet (UV) merupakan salah satu sinar dengan daya radiasi yang dapat bersifat letal bagi mikroorganisme. Sinar ultra violet mempunyai panjang gelombang mulai 4 nm hingga 400 nm dengan efesiensi tertinggi untuk pengendalian mikroorganisme pada 253,7 nm. Sinar ultra violet memiliki efek letal terhadap sel-sel mikroorganisme, maka sinar ultra violet sering digunakan di tempat-tempat yang menuntut kondisi aseptik seperti ruang operasi, laboratorium, ruang produksi industri makanan dan minuman, serta farmasi. Salah satu sifat sinar ultra violet adalah daya penetrasi yang sangat rendah, selapis kaca

yang tipis pun sudah mampu menahan sebagian besar sinar ultra violet. Oleh karena itu sinar ultra violet hanya dapat efektif mengendalikan mikroorganisme pada permukaan yang terpapar langsung oleh sinar ultra violet (Ariyadi, 2009).

10. Sinar UV
a. Definisi

Sinar ultraviolet merupakan suatu bagian dari spektrum elektromagnetik dan tidak membutuhkan medium untuk merambat. Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang mulai 4 nm hingga 400 nm dengan efesiensi tertinggi untuk pengendalian mikroorganisme pada 253,7 nm (Metcalf dan Eddy, 2003).

Salah satu sifat sinar ultraviolet adalah daya penetrasi yang sangat rendah, sehingga tidak dapat digunakan pada material tertutup. Untuk memperoleh hasil yang baik, maka bahan yang akan disterilisasi harus dilewatkan atau ditempatkan langsung dibawah sinar UV (Waluyo, 2010). Sinar ultraviolet memiliki efek letal terhadap sel-sel mikroorganisme, maka sinar ultra violet sering digunakan di tempat-tempat yang menuntut kondisi aseptik seperti ruang operasi, laboratorium, ruang produksi industri makanan dan minuman, serta farmasi. (Volk dan Wheeler, 1989).

b. Jenis-jenis Sinar Ultraviolet

Sinar ultraviolet digolongkan menjadi tuga kelompok yaitu :

1) UV-A dengan panjang gelombang 315nm – 400nm.
2) UV-B dengan panjang gelombang 280nm - 315nm.
3) UV-C dengan panjang gelombang 200nm – 280nm.

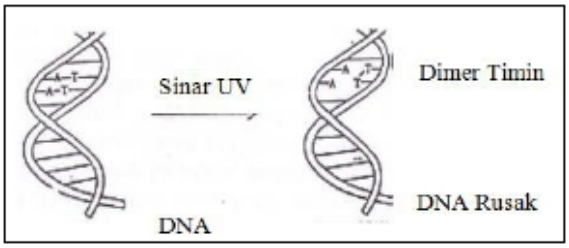
UV-C paling efektif untuk membuat bakteri dan virus mati (Metcalf dan Eddy, 2003).

c. Mekanisme desinfeksi dengan UV

Radiasi ultraviolet merupakan suatu sumber energi yang mempunyai kemampuan untuk melakukan penetrasi ke dinding sel mikroorganisme dan mengubah komposisi asam nukleatnya. Sinar ultraviolet menyebabkan perubahan sel berupa denaturasi protein, kerusakan DNA dan hambatan replikasi DNA (Gupte, 2003).

Mekanisme kerja sinar ultraviolet adalah DNA bakteri mengabsorpsi sinar ultraviolet oleh asam nukleat tanpa menyebabkan kerusakan pada permukaan sel, energi yang diabsorpsi ini akan menyebabkan terjadinya ikatan antara molekul-molekul timin yang bersebelahan serta terbentuknya dimer timin pada rantai DNA sehingga replikasi DNA selama proses reproduksi tidak terjadi dan mengakibatkan kematian bakteri (Ariyadi & Dewi , 2009).

Dimer timin akan menghalangi replikasi DNA normal dengan cara menutup jalan enzim replikasi. Dalam keadaan tersebut, system perbaikan yang cenderung salah dirangsang untuk mereplikasi sel melalui DNA yang rusak, inilah yang dinamakan mutasi sel, absorbs radiasi sinar UV menyebabkan modifikasi kimiawi nucleoprotein dan menimbulkan hubungan silang antara pasangan pasangan molekul timin. Hubungan ini dapat menimbulkan salah baca dari kode genetika yang berakibat mutase. Selanjutnya akan merusak atau memperlemah fungsi vital organisme dan kemudian mematikannya (Waluyo, 2010).



Gambar 2. Pengaruh Sinar UV terhadap Sel Bakteri

Sumber : Alcamo,1984

11. Pewarnaan Gram

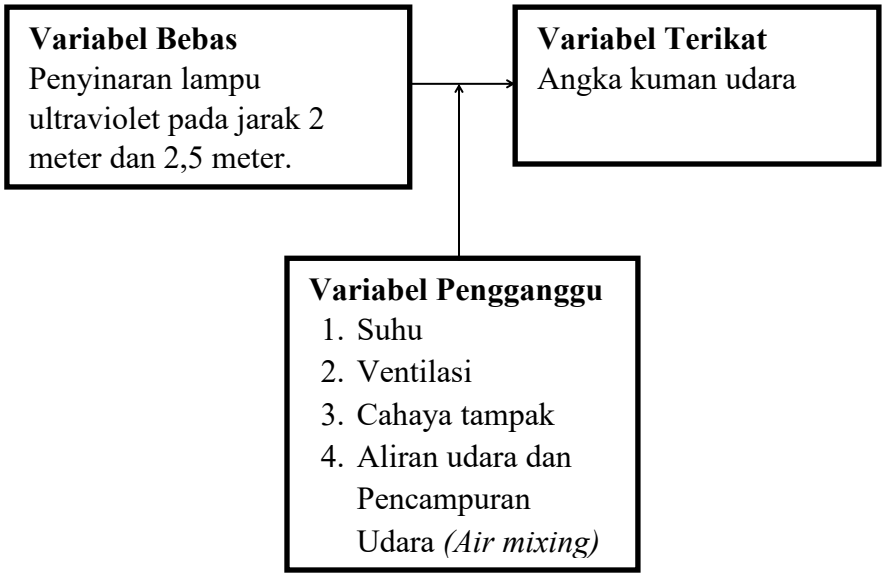
Pengecatan Gram adalah suatu metode empiris untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni gram positif dan gram negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel mereka. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan tebal dan asam teichoic dalam jumlah banyak. Sehingga mereka tidak terpengaruh oleh dekolorisasi alkohol dan tetap mempertahankan warna pengecatan pertama, yakni berwarna ungu tua. Bakteri Gram Negatif hanya memiliki satu lapis peptidoglikan yang menempel pada membrane luar *asymmetric lipopolysaccharidephospholipid bilayer* yang berselang seling dengan protein. Membrane luar ini akan hancur oleh *alcohol decolorizer* yang akan mengakibatkan keluarnya *crystal violet-iodine complex* dan digantikan oleh counterstain (Garcia, 2010).

Bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode pewarnaan Gram. Bakteri gram positif akan mempertahankan warna ungu gelap setelah dicuci dengan alcohol, sementara bakteri gram negative tidak. Bakteri gram negatif memiliki 3 lapisan dinding sel. Lapisan terluar yaitu lipoposakarida (lipid) kemungkinan tercuci oleh alkohol, sehingga pada saat diwarnai dengan safranin akan berwarna merah. Bakteri gram positif memiliki selapis dinding sel berupa peptidoglikan yang tebal. Setelah pewarnaan dengan kristal violet, pori-pori dinding sel

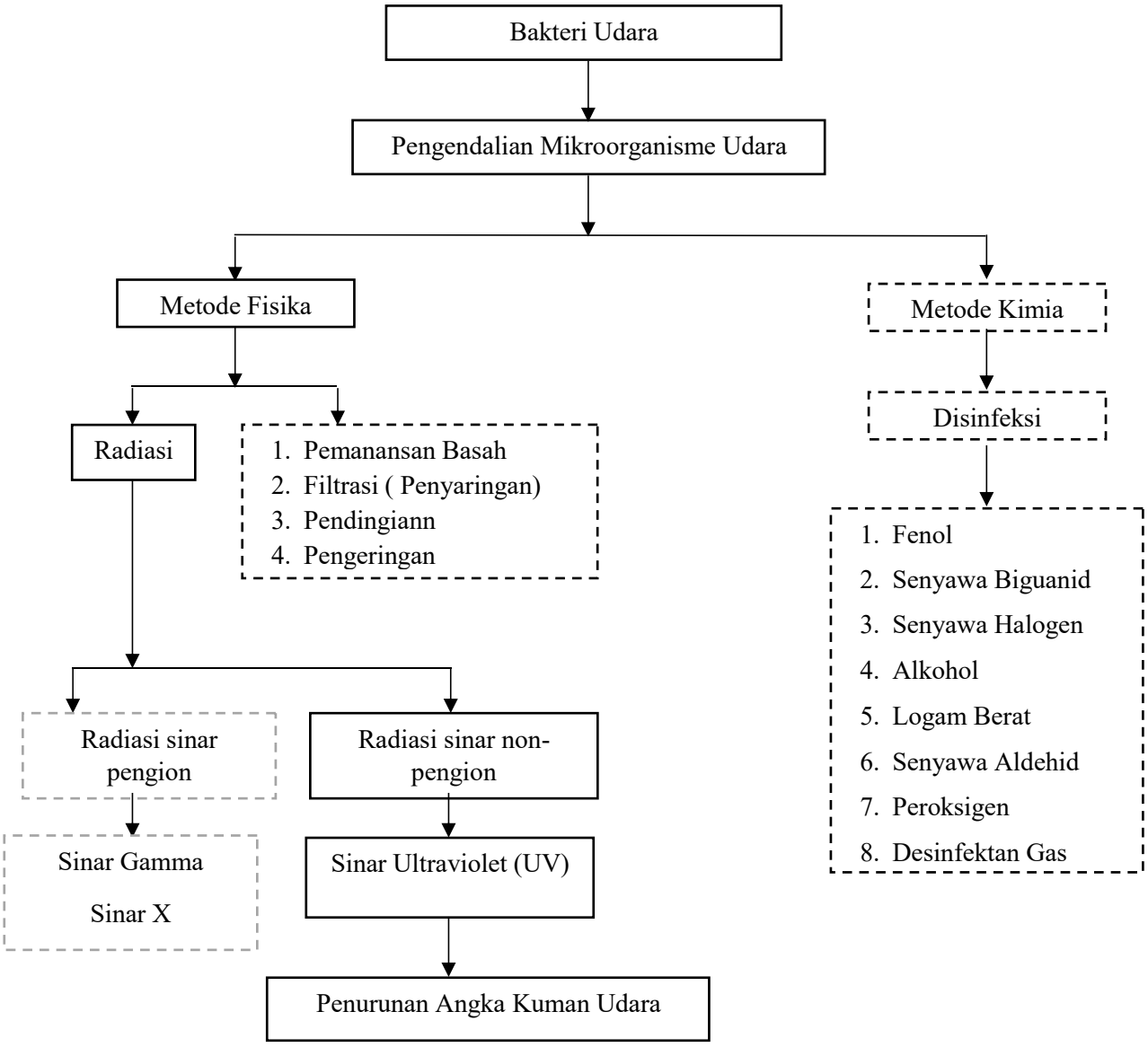
menyempit akibat dekolorisasi oleh alkohol sehingga dinding sel tetap menahan warna biru (Fitria, 2009).

Bakteri gram positif adalah bakteri yang mempertahankan zat warna metil ungu sewaktu proses pewarnaan Gram. Bakteri gram positif menunjukkan warna biru atau ungu dengan pewarnaan ini, sedangkan bakteri gram negatif menunjukkan warna merah. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan gram pada bakteri adalah didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri gram positif mengandung protein dan gram negatif mengandung lemak dalam presentase lebih tinggi dan dinding selnya tipis. Pemberian alkohol (etanol) pada praktikum pewarnaan bakteri, menyebabkan terekstraksi lipid sehingga memperbesar permeabilitas dinding sel. Pewarnaan safranin masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel menjadi berwarna merah pada bakteri gram negatif sedangkan pada bakteri gram positif dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori – pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarna safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu, yang merupakan warna dari Kristal Violet.

B. Hubungan Antar variabel



C. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

Sumber : Volk dan Wheeler, 1998

Keterangan :

: Diteliti

: Tidak diteliti

D. Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan jumlah angka kuman udara sebelum dan setelah disinari lampu ultraviolet pada jarak 2 meter dan 2,5 meter di Laboratorium Hematologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.