

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bakteri *Streptococcus mutans*

a. Klasifikasi

Menurut Soedarto (2015), klasifikasi *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Lactobacillales

Famili : Streptococcaceae

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus mutans*

b. Morfologi

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif (+) yang berbentuk bulat atau bulat telur, anaerob fakultatif, bersifat non motil (tidak bergerak), mempunyai diameter 1-2 μm , membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya dan tidak membentuk spora (Andries dkk., 2014). *Streptococcus mutans* merupakan bakteri anaerob gram positif berbentuk bulat dalam klasifikasi *Streptococcus* yang memiliki sifat α -hemolitik. Bakteri ini menunjukkan hemolisis alfa pada media agar darah

(Fransiska dkk., 2012). Metabolisme genus *Streptococcus* secara fermentatif menghasilkan sebagian besar laktat bukan gas serta tidak memproduksi enzim katalase. Bakteri tersebut kebanyakan berhabitat di mulut dan jalur pernapasan bagian atas, beberapa spesies bersifat patogen bagi manusia dan hewan (Prasetya, 2012).

Streptococcus mutans tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18°C – 40°C. *Streptococcus mutans* biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang paling kondusif sehingga menyebabkan karies untuk email gigi. *Streptococcus mutans* bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, mampu tinggal pada lingkungan asam dan menghasilkan suatu polisakarida yang dapat melekat yang disebut dextran. Hal ini menyebabkan *Streptococcus mutans* bisa melekat dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, sehingga pH turun dan keadaan pH asam ini dapat melarutkan email gigi sehingga terjadi karies gigi (Nugraha, 2008).

c. Patogenitas

Streptococcus mutans merupakan salah satu spesies bakteri di dalam rongga mulut yang mempunyai kemampuan dalam proses pembentukan plak dan karies gigi (Sitorus, 2010). Di dalam rongga mulut, bakteri ini merupakan flora normal, tetapi jika lingkungannya menguntungkan dan terjadi peningkatan populasi bakteri, maka bakteri ini akan berubah menjadi bakteri patogen

(Dhika, 2007). Karies gigi dapat menyebabkan nyeri, infeksi, kehilangan gigi dan kematian pada kasus yang parah, kecuali mendapatkan pengobatan yang baik, hal tersebut dapat dihindari (Mahmudah dan Atun, 2017).

Karies gigi merupakan suatu kerusakan gigi yang dimulai dari permukaan dan berkembang ke arah dalam. Permukaan email gigi yang seluruhnya non seluler mengalami demineralisasi. Hal ini akibat dari produk fermentasi bakteri yang bersifat asam (Brooks dkk., 2005). Karies gigi disebabkan oleh beberapa hal yang menyebabkan bertambah parah, seperti gula, air liur dan juga bakteri pembusuknya. Setelah makan sesuatu yang mengandung gula, terutama sukrosa dan bahkan setelah beberapa menit penyikatan gigi dilakukan, glikoprotein yang lengket (kombinasi molekul protein dan karbohidrat) bertahan pada gigi dan dimulailah pembentukan plak pada gigi (Nugraha, 2008).

Plak pada gigi tersebut terdiri atas endapan-endapan gelatin dari glukukan yang mempunyai berat molekul tinggi yang merupakan tempat bakteri penghasil asam melekat pada email. Polimer-polimer karbohidrat (glukan) terutama dihasilkan oleh *Streptococcus* (*Streptococcus mutans*, *peptostreptococcus*) (Brooks dkk., 2005). *Streptococcus mutans* mempunyai suatu enzim yang disebut glukosil transferase di atas permukaannya yang dapat menyebabkan polimerisasi glukosa pada sukrosa dengan pelepasan

dari fruktosa, sehingga dapat mensintesa molekul glukosa yang memiliki berat molekul yang tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) dan alfa (1-3). Pembentukan alfa (1-3) ini tidak larut dalam air karena sangat lengket. Hal ini dimanfaatkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* untuk berkembang dan membentuk plak pada gigi (Nugraha, 2008). Pembentukan asam (pH < 5 atau konsentrasi asam yang tinggi) dari karbohidrat dalam jumlah besar oleh *Streptococcus* dan *Lactobacillus* mengakibatkan demineralisasi email tempat melekat dan menimbulkan karies (Brooks dkk., 2005).

2. Pertumbuhan bakteri

a. Kebutuhan nutrisi

Mikroorganisme membutuhkan nutrien-nutrien dasar untuk kelangsungan hidupnya, antara lain :

1) Karbon

Karbon merupakan kebutuhan untuk mikroorganisme yang paling penting dan atom pusat yang umum bagi semua struktur dan fungsi seluler. Terdapat dua jenis mikroba yang bergantung pada karbon, yaitu :

- a) Autotrof: Organisme-organisme ini dapat tumbuh di dalam media yang hanya mengandung senyawa anorganik. Organisme tersebut menggunakan karbon anorganik dalam bentuk karbon dioksida (Cappuccino dan Sherman, 2013).

b) Heterotrof: Organisme-organisme ini tidak dapat tumbuh di dalam media yang hanya mengandung senyawa anorganik. Organisme tersebut harus tumbuh di dalam media yang berisi nutrien-nutrien organik, terutama glukosa (Cappuccino dan Sherman, 2013).

2) Nitrogen

Nitrogen merupakan atom penting dalam berbagai makromolekul seluler, terutama protein-protein dan asam-asam nukleat. Protein berperan sebagai molekul-molekul struktural yang bertanggungjawab atas aktivitas-aktivitas metabolik sel. Asam nukleat mencakup DNA dan RNA, sebagai peranan aktif dalam sintesis protein di dalam sel (Cappuccino dan Sherman, 2013).

3) Unsur logam

Unsur logam seperti Ca^{2+} , Zn^{2+} , Na^+ , K^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} dan $\text{Fe}^{2+,3+}$ merupakan beberapa ion logam yang diperlukan untuk kelangsungan kinerja beragam proses aktivitas seluler secara tepat. Beberapa aktivitas seluler tersebut antara lain yaitu osmoregulasi, pengaturan aktivitas enzim dan transpor elektron selama oksidasi hayati (Cappuccino dan Sherman, 2013).

4) Unsur non-logam

Unsur non-logam utama yang digunakan untuk nutrisi seluler yaitu :

a) Sulfur

Sulfur merupakan komponen protein yang merupakan bagian integral beberapa asam amino. Sumber-sumber sulfur meliputi senyawa organik, senyawa anorganik dan unsur sulfur dasar (Cappuccino dan Sherman, 2013).

b) Fosfor

Fosfor dibutuhkan untuk pembentukan asam-asam nukleat DNA dan RNA dan untuk senyawa organik berenergi tinggi adenosin trifosfat (ATP). Fosfor digunakan oleh semua sel mikroba dan tersedia dalam bentuk garam-garam fosfat (Cappuccino dan Sherman, 2013).

5) Energi

Aktivitas metabolik kehidupan seluler termasuk transpor aktif, biosintesis dan biodegradasi makromolekul-makromolekul. Aktivitas-aktivitas tersebut hanya dapat berlangsung jika terdapat ketersediaan energi yang stabil di dalam sel. Dua tipe bioenergetik mikroorganisme, antara lain :

a) Fototrof : Energi radiasi digunakan oleh mikroorganisme ini sebagai sumber energinya (Cappuccino dan Sherman, 2013).

b) Kemotrof : Sumber energi mikroorganisme ini bergantung pada oksidasi senyawa kimia. Beberapa mikroba menggunakan senyawa organik seperti glukosa dan anorganik seperti H_2S dan $NaNO_2$ (Cappuccino dan Sherman, 2013).

6) Vitamin

Vitamin merupakan unsur organik yang berperan terhadap pertumbuhan seluler dan penting untuk aktivitas sel. Vitamin diperlukan oleh mikroorganisme dalam jumlah sedikit. Vitamin juga merupakan sumber koenzim dalam pembentukan sistem enzim aktif (Cappuccino dan Sherman, 2013).

7) Air

Semua sel membutuhkan air suling di dalam media untuk membantu nutrien-nutrien berbobot rendah melintasi membran sel (Cappuccino dan Sherman, 2013).

b. Faktor fisik yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri

1) Suhu

Suhu yang rendah dapat memperlambat atau menghambat aktivitas enzim sehingga memperlambat atau menghambat metabolisme sel, sehingga mengakibatkan lambatnya pertumbuhan sel. Sedangkan suhu yang tinggi dapat mendenaturasi enzim yang termolabil secara takterbalikkan karena diakibatkan oleh koagulasi (Cappuccino dan Sherman,

2013). Suhu optimal merupakan pencerminan lingkungan normal bakteri, sehingga suhu optimal pertumbuhan bakteri patogen bagi manusia biasanya 37°C (Brooks dkk., 2008).

2) pH lingkungan ekstraseluler

Aktivitas enzimatik sel-sel sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan ekstraseluler. pH 7 atau pH netral merupakan pH optimum untuk metabolisme sel. pH asam maupun basa dapat menyebabkan aktivitas sel terganggu. Meningkatnya atau menurunnya pH dapat memperlambat laju reaksi kimia karena terjadi kerusakan enzim-enzim seluler yang akan mempengaruhi laju pertumbuhan dan kehidupan sel (Cappuccino dan Sherman, 2013).

3) Kebutuhan gas

Oksigen atmosferik diperlukan untuk proses biooksidatif respirasi pada sebagian besar sel. Oksigen atmosferik ini sangat penting untuk pembentukan ATP dan ketersediaan energi yang digunakan untuk aktivitas sel (Cappuccino dan Sherman, 2013).

c. Macam-macam media pertumbuhan bakteri

1) Media selektif atau diferensial

Media selektif digunakan untuk membedakan kelompok-kelompok organisme yang berkaitan secara morfologis dan

biokimia. Media-media berikut merupakan contoh dari jenis media selektif :

a) Agar garam manitol

Media ini mengandung konsentrasi garam yang tinggi yaitu NaCl 7,5%, yang dapat menghambat pertumbuhan sebagian besar, tetapi tidak semua bakteri. Media ini juga memperlihatkan fungsi diferensial yaitu media ini mengandung karbohidrat manitol yang dapat difermentasikan oleh beberapa *Staphylococcus sp.*, dan fenol merah sebagai indikator pH untuk mendeteksi asam yang dihasilkan oleh *Staphylococcus sp.* pemfermentasi manitol. Stafilocokus tersebut menunjukkan zona kuning di sekeliling pertumbuhan dan yang tidak memfermentasi manitol tidak akan menghasilkan perubahan warna (Cappuccino dan Sherman, 2013).

b) Agar MacConkey

Kristal violet menghambat pertumbuhan organisme-organisme gram positif dan hanya dapat menumbuhkan bakteri gram negatif. Karbohidrat laktosa, garam-garam empedu dan indikator pH merah netral memungkinkan diferensiasi bakteri-bakteri enterik berdasarkan kemampuannya untuk memfermentasi laktosa. Koloni bakteri gram negatif yang memfermentasikan laktosa akan

memperlihatkan warna merah pada permukaannya karena bakteri tersebut menghasilkan asam berlebih untuk mengendapkan garam empedu yang diikuti dengan absorpsi merah netral, sedangkan koloni bakteri gram negatif yang bukan fermenter laktosa tidak berwarna (transparan) karena tidak menghasilkan asam (Cappuccino dan Sherman, 2013).

c) Agar Eosin Metilen Biru (Levine)

Media ini terdiri dari laktosa, pewarnaan eosin dan metilen biru dan dapat membedakan antara bakteri fermenter dan bukan fermenter laktosa enterik serta identifikasi *Escherichia coli*. Sejumlah besar asam yang dihasilkan dan mengendapkan pewarna ke permukaan pertumbuhan menyebabkan koloni *Escherichia coli* berwarna biru-hitam dengan kilap hijau metalik (Cappuccino dan Sherman, 2013).

2) Media yang diperkaya

Media ini telah ditambahkan dengan bahan-bahan bernutrisi tinggi antara lain seperti darah, serum atau ekstrak khamir dengan tujuan untuk kultivasi organisme-organisme selektif. Contoh media ini adalah media agar darah atau media *Blood Agar Plate* (BAP). Darah yang digunakan dalam media ini sebagai bahan pengayaan untuk kultivasi organisme-organisme selektif, seperti *Streptococcus spp.* Darah juga memungkinkan

beberapa mikroorganisme memperlihatkan sifat hemolitiknya, terutama streptokokus yang aktivitas hemolisisnya diklasifikasikan sebagai berikut :

- a) Hemolisis gamma : tidak ada perubahan yang signifikan pada tampilan media di sekeliling koloni disebabkan karena sel-sel darah merah tidak lisis (Cappuccino dan Sherman, 2013).
- b) Hemolisis alfa : reduksi hemoglobin menjadi methemoglobin menghasilkan zona berwarna kehijauan di sekeliling pertumbuhan bakteri karena sel-sel darah merah lisis secara tidak sempurna (Cappuccino dan Sherman, 2013).
- c) Hemolisis beta : sel-sel darah merah lisis dengan penghancuran hemoglobin secara sempurna oleh organisme yang menghasilkan zona jernih di sekeliling koloni (Cappuccino dan Sherman, 2013).

3. Darah Domba

Para ahli mikrobiologi dapat menginterpretasikan bakteri tumbuh dengan lebih tepat menggunakan darah domba. Di negara berkembang seperti Indonesia, penggunaan darah domba wol (*Wool Sheep*) jarang digunakan, karena domba wol sulit beradaptasi dengan iklim tropis. Media agar darah domba merupakan media standar, salah satunya sebagai media pertumbuhan untuk mengidentifikasi jenis

bakteri patogen. (Abdat, 2010). Media agar darah domba dibuat dengan menambahkan 5-10% darah domba (Krihariyani dkk., 2016). Darah domba yang digunakan mengalami proses defibrinasi (proses pembuangan fibrin dari dalam darah dengan cara pengadukan atau pengendapan kimia) dan biasanya digunakan untuk mengisolasi dan menumbuhkan mikroorganisme patogen. Darah domba mengandung eritrosit, lemak, protein (albumin dan globulin), glukosa, asam amino, urea, keratin, natrium, kalium, magnesium, fosfat, mangan, kobal, tembaga, seng dan yodium (Djannatun dkk., 2008).

4. Darah Manusia

a. Darah

Darah merupakan komponen dasar makhluk hidup dalam keadaan fisiologis yang berfungsi sebagai pembawa oksigen, mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi dan mekanisme hemostasis (Pearce, 2010). Darah terdiri dari dua komponen utama, yaitu :

1) Plasma darah

Plasma merupakan komponen intraseluler yang berbentuk cair dan jumlahnya sekitar 55% dari volume darah (Pearce, 2010). Bagian cair darah dalam plasma tersebut terdiri dari 92% air, 7% protein, 1% nutrien, hasil metabolisme, gas pernapasan, enzim, hormon-hormon, faktor pembekuan dan garam-garam organik (Desmawati, 2013). Plasma atau serum

mengandung berbagai macam zat, antara lain glukosa, albumin, globulin, fibrinogen, kolesterol, urea, asam urat, amilase, transaminase, insulin, adrenalin, zat besi (Fe), kalium (K), vitamin A, vitamin K, kreatinin dan bilirubin (Depkes RI, 1989).

2) Bagian korpuskuli

Bagian korpuskuli yang membentuk sekitar 45%, terdiri atas eritrosit, leukosit dan trombosit. Eritrosit merupakan unsur terbanyak dari sel darah yaitu sebanyak 44%, sedangkan leukosit dan trombosit sebanyak 1% (Desmawati, 2013).

b. Donor darah

Donor darah merupakan proses pemindahan atau pemberian darah dari seseorang (donor) kepada orang lain (resipien). Tujuan dari donor darah yaitu mengganti darah yang hilang akibat perdarahan, luka bakar, mengatasi *shock* dan mempertahankan daya tahan tubuh terhadap infeksi (Setyati, 2010).

Konsultan medis yang bertanggung jawab terhadap pendonor pada setiap tindakan donor darah harus ada. Sistem tertutup dengan teknik aseptik dan *venepuncture* steril tunggal digunakan saat pengambilan darah (Kiswari, 2014). Darah donor ditampung dalam kantong plastik dengan teknik aseptik dan *citrate-fosfat dektose* (CPD) merupakan antikoagulan yang biasa digunakan (Mudatsir, 2010). Setelah 35 hari, darah donor tidak

dapat digunakan karena terjadi penurunan jumlah sel yang hidup (Jones dan Wickramasinghe, 1995).

c. Produk darah donor

Produk darah donor, antara lain :

1) Darah utuh (*whole blood*)

Darah utuh berisi eritrosit, leukosit, trombosit dan plasma. Satu unit kantong darah utuh berisi 250-450 ml darah dengan antikoagulan sebanyak 15 ml/100ml darah (Sudoyo dkk., 2009). Darah dapat disimpan hingga 35 hari. Darah simpan tersebut mengandung trombosit dan sebagian faktor pembeku yang jumlahnya sudah menurun (Bakta, 2007).

2) Paket sel darah merah (*packed red cell*)

Packed red cell terdiri dari eritrosit yang telah dipekatkan dengan memisahkan eritrosit dengan plasma. Pemisahan tersebut berfungsi untuk memperpanjang masa hidup eritrosit secara *in vitro*. Waktu simpan *packed red cell* yaitu 35 hari pada suhu 2-6°C (Bain, 2012).

3) Konsentrat trombosit

Trombosit yang diambil dari 4 pendonor dikumpulkan dalam satu kantong darah. Usia simpan trombosit hanya 5 hari pada suhu 20-24°C dan dijaga tetap bergerak pada agitator (alat penggoyang otomatis) (Bain, 2012).

4) Plasma beku segar (*fresh-frozen plasma*)

Plasma beku segar (*fresh-frozen plasma*) merupakan plasma yang membeku dengan cepat, karena saat masih segar, plasma akan membeku. Hal tersebut disebabkan oleh faktor koagulasi yang terdapat dalam plasma tetap aktif. Usia simpan plasma beku segar (*fresh-frozen plasma*) hingga 2 tahun pada suhu -30°C (Bain, 2012).

d. Darah donor kadaluwarsa

Darah donor kadaluwarsa merupakan darah donor yang telah melewati batas masa simpan dan tidak dapat digunakan untuk transfusi darah. Hal tersebut dikarenakan terjadi penurunan jumlah sel yang hidup. Masa simpan darah yaitu hingga 35 hari (Bakta, 2007). Bila penyimpanan melebihi 35 hari, maka darah menjadi kadaluwarsa dan sering terbuang percuma. Hal ini dikarenakan darah tersebut tidak dapat ditransfusikan ke resipien karena beberapa faktor, antara lain yaitu daya hidup eritrosit yang rendah dan terjadinya perubahan transportasi oksigen serta berkurangnya faktor pembekuan, yaitu faktor V dan faktor VIII (Mudatsir, 2010).

Darah terdiri dari plasma atau serum yang mengandung berbagai macam zat, antara lain glukosa, albumin, globulin, fibrinogen, kolesterol, urea, asam urat, amilase, transaminase, insulin, adrenalin, zat besi (Fe), kalium (K), vitamin A, vitamin K, kreatinin dan bilirubin (Depkes RI, 1989) dan bagian korpuskuli yang membentuk sekitar 45%, terdiri atas eritrosit, leukosit dan

trombosit. Eritrosit merupakan unsur terbanyak dari sel darah yaitu sebanyak 44%, sedangkan leukosit dan trombosit sebanyak 1% (Desmawati, 2013). Darah manusia yang sudah kadaluwarsa dengan seluruh komponen yang terkandung masih memperlihatkan warna seperti darah segar. Darah manusia kadaluwarsa yang telah sangat berkurang faktor-faktor pembekuan tersebut telah memenuhi persyaratan untuk pembuatan media biakan bakteri, karena darah yang mengandung faktor pembekuan harus didefibrinasi (Djannatun, 2008).

5. Viabilitas bakteri

Viabilitas bakteri merupakan kemampuan pertumbuhan bakteri. Kemampuan bakteri untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan hal yang penting untuk diketahui.

a. Kurva pertumbuhan bakteri



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Bakteri
Sumber: Riadi, 2016.

1) Fase lag

Fase lag yaitu fase penyesuaian bakteri terhadap lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bermacam-macam, tergantung pada pH, suhu, komposisi media, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme pada media sebelumnya. Sel mulai membelah hingga mencapai populasi yang maksimum pada saat sel telah menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Pada fase ini, sel tidak mengalami penambahan populasi, sel mengalami perubahan dalam komposisi kimia dan penambahan ukuran, serta penambahan substansi intraseluler (Riadi, 2016).

2) Fase logaritmik (log)

Sel-sel yang sehat secara fisiologis bereproduksi dengan cepat dan seragam dengan cara pembelahan biner pada kondisi nutrisi dan fisik yang optimum. Terjadi peningkatan eksponensial yang cepat pada populasi yang menggandakan jumlah secara teratur hingga jumlah sel dapat mencapai maksimum. Panjang fase ini bermacam-macam bergantung pada organisme dan komposisi media. Waktu yang dibutuhkan rata-rata dapat diperkirakan berlangsung 6 hingga 12 jam (Cappuccino dan Sherman, 2013).

3) Fase stasioner

Tidak terjadi peningkatan jumlah sel dan populasi bertahan pada tingkat maksimum selama periode waktu tertentu selama tahap ini, dikarenakan jumlah sel-sel yang mengalami pembelahan sama dengan jumlah sel yang mati. Berkurangnya beberapa metabolit penting dan akumulasi produk akhir asam atau basa yang bersifat toksik di dalam media menjadi penyebab utama yang menimbulkan fase ini (Cappuccino dan Sherman, 2013).

4) Fase penurunan atau kematian

Mikroorganisme mati dengan cepat dan seragam pada fase ini karena terjadi penurunan nutrisi yang berkelanjutan dan bertambahnya buangan metabolik. Penurunan populasi hampir sama dengan peningkatannya pada fase log (Cappuccino dan Sherman, 2013).

b. Teknik isolasi biakan bakteri

1) Metode cawan gores

Metode cawan gores merupakan metode isolasi kualitatif yang cepat. Teknik pengenceran pada metode ini melibatkan penyebaran satu ose penuh biakan di seluruh permukaan media agar. Terdapat banyak cara yang dilakukan pada metode ini, diantaranya yaitu metode gores empat sektor atau gores kuadran.

2) Metode cawan sebar

Metode cawan sebar menggunakan biakan bakteri yang sebelumnya telah diencerkan. Sel bakteri disebarkan pada permukaan media agar padat menggunakan ose bengkok atau ose yang berbentuk “L” steril selama inokulasi dan cawan petri diputar.

3) Metode cawan tuang

Metode cawan tuang ini membutuhkan ose atau pipet untuk melakukan pengenceran biakan bakteri secara berseri, kemudian inokulum yang telah diencerkan tersebut dituangkan pada media agar cair di dalam cawan petri, dicampur, lalu dibiarkan hingga memadat (Cappuccino dan Sherman, 2013).

c. Perhitungan bakteri

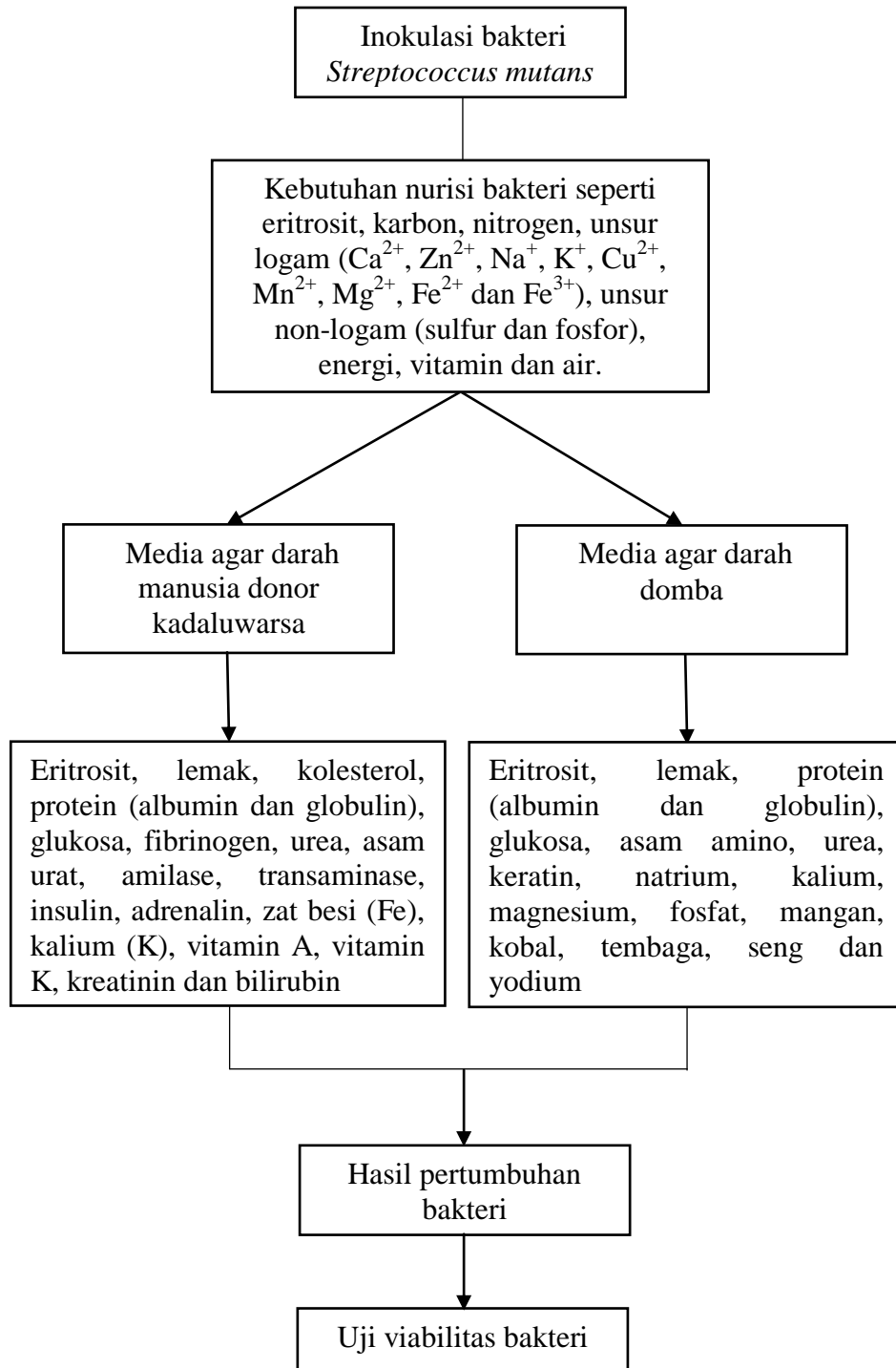
Jumlah bakteri merupakan salah satu faktor penting, karena dapat menentukan kinerja dari bakteri tersebut. Jumlah bakteri dapat dilakukan dengan perhitungan jumlah bakteri yang hidup (Suriawiria, 2005). Perhitungan bakteri harus mengandung 30 hingga 300 bakteri. Hitungan total suspensi diperoleh dengan cara mengalikan jumlah koloni bakteri per lempeng dengan faktor pengenceran yang digunakan (Cappuccino dan Sherman, 2013).

Syarat koloni yang digunakan untuk perhitungan, antara lain :

- 1) Satu koloni dihitung satu koloni.
- 2) Dua koloni yang bertumpuk menjadi satu dihitung satu koloni.

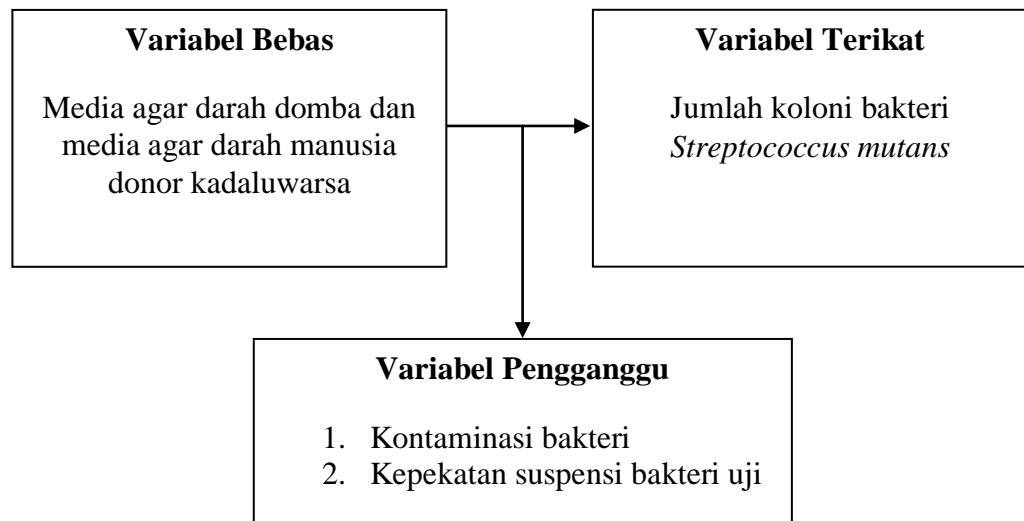
- 3) Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu dihitung satu koloni.
- 4) Dua koloni yang berdekatan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni (Hadioetomo, 1990).

B. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah tidak ada perbedaan hasil uji viabilitas bakteri *Streptococcus mutans* pada media agar darah manusia donor kadaluwarsa dan media agar darah domba.