

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Sterilisasi

Sterilisasi adalah proses secara kimia atau fisika yang digunakan untuk membunuh semua bentuk kehidupan mikroorganisme, dan menghilangkan pencemaran oleh jasad renik baik hidup ataupun mati. Tujuan utama pengendalian mikroorganisme antara lain mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme yang sering sebagai bakteri kontaminan, mencegah pembusukan dan kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Boleng, 2015)

Metode sterilisasi dibagi menjadi dua, yaitu metode fisik dan metode kimia. Metode sterilisasi kimia dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia. Sedangkan metode sterilisasi fisik dapat dilakukan dengan cara panas, baik panas kering maupun panas basah, radiasi dan filtrasi.

1) Metode sterilisasi kimia

Metode sterilisasi kimia dilakukan untuk bahan-bahan yang akan rusak bila disterilkan pada suhu tinggi (misalnya bahan-bahan dari plastik). Kekuatan agen anti mikroba kimiawi diklasifikasikan atas dasar efisiensinya dalam membunuh mikroorganisme. Seluruh gremisida diklasifikasikan sebagai kategori tingkat tinggi karena

efektif untuk seluruh bentuk kehidupan mikroba termasuk endospora bakteri (Pratiwi, 2008)

Metode sterilisasi kimia dapat dilakukan dengan menggunakan gas (dengan cara fumigasi atau pengasapan). Beberapa bahan kimia yang dapat digunakan untuk sterilisasi gas adalah etilen oksida, gas formaldehid, asam parasetat, dan glutaraldehid alkalin. Sterilisasi kimia juga dapat dilakukan dengan penggunaan cairan desinfektan berupa senyawa aldehid, hipoklorit, fenolik, dan alkohol (Pratiwi, 2008)

2) Metode sterilisasi fisik

a. Sterilisasi panas

Metode sterilisasi ini digunakan untuk bahan yang tahan panas. Metode sterilisasi panas tanpa kelembaban disebut metode sterilisasi kering. Umumnya untuk bahan yang sensitive terhadap kelembaban digunakan metode sterilisasi panas kering pada temperature 160-180⁰C, sedangkan untuk bahan yang resisten kelembaban digunakan metode sterilisasi basah pada temperature 115-134⁰C. Macam-macam sterilisasi dengan pemanasan antara lain:

- a) pemanasan dengan nyala api,
- b) pemanasan dengan udara panas (Dry Heat Oven),
- c) merendam dalam air mendidih,
- d) sterilisasi dengan uap air (menggunakan Autoclave),

- e) pemanasan dengan uap air yang mengalir
- f) sterilisasi benda-benda yang tidak tahan suhu tinggi
(Pasteurisasi, tyndalisasi)

b. Sterilisasi dengan penyaringan (filtrasi)

Sterilisasi dengan penyaringan digunakan untuk bahan yang sensitive terhadap panas misalnya enzim. Pada proses ini digunakan membrane filter yang terbuat dari selulosa asetat. Kerugian prosedur ini adalah biaya yang mahal serta filter yang mudah mampat akibat filtrate yang tertinggal pada saringan sehingga harus sering diganti. Kerugian yang lain adalah meskipun memiliki pori-pori yang halus, membrane filter tidak dapat digunakan untuk menyaring virus, jenis filter yang sering digunakan adalah filter HEPA (High Efficiency Particulate Air) (Pratiwi, 2008)

c. Dengan Pengeringan

Pengeringan akan menyebabkan larutan disekeliling mikroba menjadi hipertonis, sehingga air keluar dari sel mikroba dan mikroba mati. Gangguan tekanan osmotik ini akan lebih bagus bila ditambahkan garam dan bumbu-bumbu seperti halnya pada pembuatan ikan asin. Cara ini bukanlah tindakan sterilisasi, melainkan pengawetan. Karena dengan pengeringan ini hanya menyebabkan berhentinya pertumbuhan dan perkembangan biakan mikroba (Kuswiyanto, 2015)

d. Pendinginan

Suhu terlalu rendah menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan biakan mikroba terhenti. Cara ini dipakai untuk mengawetkan bahan makanan yang mudah membusuk. Pada suhu -20°C mikroba tidak bias merombak makanan sehingga tidak terjadi pembusukan. Beberapa bakteri mati pada suhu 0°C misalnya *Neisseria gonorrhoea*, *Trypanosoma pallidum* (Kuswiyanto, 2015)

e. Sterilisasi dengan radiasi

Metode sterilisasi dengan menggunakan radiasi dilakukan dengan menggunakan sinar UV ataupun dengan metode ionisasi. Sinar UV ini bereaksi dengan asam nukleat sel mikroorganisme dan menyebabkan ikatan antar molekul timin yang bersebelahan dan menyebabkan terbentuknya dimer timin. Dimer timin menyebabkan gagalnya replikasi DNA. Penggunaan sterilisasi dengan sinar UV diantaranya yaitu untuk sterilisasi cabinet dan ruangan (Pratiwi, 2008)

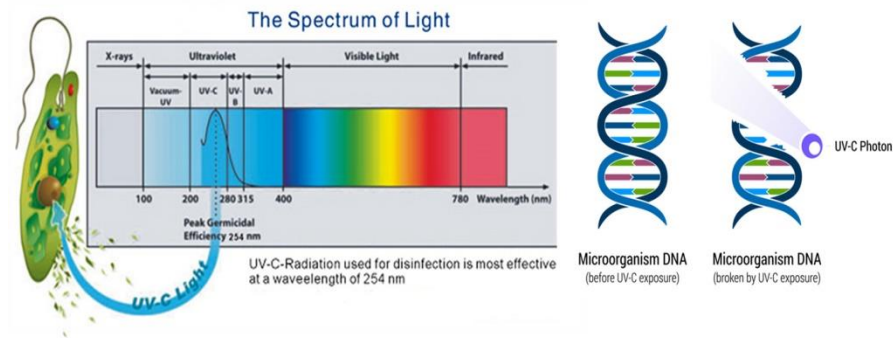
2. Pengendalian Mikroba dengan Radiasi Ultraviolet

Sinar ultraviolet (UV) adalah bagian dari spektrum elektromagnetik dengan panjang gelombang antara 100 nm dan 400 nm. Sinar ultraviolet digolongkan menjadi beberapa kelompok berdasarkan panjang gelombangnya yaitu UV-A dengan panjang gelombang antara 315 nm dan 400 nm mengakibatkan perubahan warna pada kulit menjadi

hitam (tanning), UV-B dengan panjang gelombang antara 280 nm dan 315 nm menyebabkan kulit terbakar dan sering digunakan untuk penyinaran penyakit kanker, UV-C dengan panjang gelombang antara 200 nm dan 280 nm adalah wilayah germicidal yang efektif untuk membunuh bakteri dan virus (Cutler dan Zimmerman , 2011).

Sumber ultraviolet buatan umumnya berasal dari lampu fluorescent khusus, seperti lampu merkuri tekanan rendah (*low pressure*) dan lampu merkuri tekanan sedang (*medium pressure*). Lampu merkuri medium pressure mampu menghasilkan output radiasi ultraviolet yang lebih besar daripada lampu merkuri *low pressure*. Namun lampu merkuri *low pressure* lebih efisien dalam pemakaian listrik dibandingkan lampu merkuri *medium pressure*. Lampu merkuri *low pressure* menghasilkan radiasi maksimum pada panjang gelombang 253,7 nm yang lethal bagi mikroorganisme, protozoa, virus dan algae (Ariyadi, 2009)

Pensterilan menggunakan sinar UV merupakan proses fisik dimana terjadi proses transfer energi elektromagnetik dari sumber (lampu) menuju materi selular (protein dan asam nukleat) organisme. Cahaya UV merusak DNA mikroorganisme dengan membentuk dimer timin (thymine dimers). Dimer ini mencegah mikroorganisme dari transkripsi dan replika DNA yang akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Sharma, 2012). Mekanisme perusakan DNA oleh sinar ultraviolet berdasarkan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme kerja lampu UV (Sharma, 2012)

Molekul DNA yang rusak dapat mengalami perbaikan apabila organisme yang terluka akibat radiasi UV kemudian terpapar visible light. Kondisi perbaikan ini disebut photoreactivation dan telah terdeteksi di banyak organisme. Perbaikan terjadi secara enzimatik dan membutuhkan cahaya pada panjang gelombang antara 310 dan 500 nm untuk menyempurnakan perbaikan DNA yang rusak akibat radiasi UV. Tingkat inaktivasi mikroorganisme tergantung pada dosis UV yang digunakan. Dosis UV dalam hal ini yaitu intensitas UV dan waktu pemaparan (Cutler dan Zimmerman , 2011).

3. Mikroorganisme udara (Bioaerosol)

Bioaerosol merupakan materi partikulat bakteri yang berasal dari hewan ataupun tanaman, baik yang bersifat patogenik maupun non patogenik yang tersuspensi di udara memiliki kisaran ukuran sebesar 0,5-30 μm . Komponen penyusun udara meliputi bakteri, air, polen, debu, senyawa organik maupun senyawa anorganik. Mikroorganisme yang paling banyak memenuhi komponen udara bebas adalah bakteri, jamur dan mikro alga, dalam bentuk vegetatif atau generatif, umumnya

berbentuk spora. Udara bukan merupakan medium tempat bakteri tumbuh, tetapi merupakan pembawa bahan partikulat, debu, tetesan air yang semua dapat sebagai tempat tumbuh bakteri. Kandungan udara dalam ruangan akan berbeda dengan luar ruangan. Bakteri dalam ruangan dipengaruhi oleh laju ventilasi, padatnya orang, taraf kegiatan orang yang menempati ruangan tersebut. Flora bakteri yang terdapat di udara bersifat sementara dan beragam (Waluyo, 2016).

Meskipun terdapat bakteri di udara, belum ditemukan bakteri yang berhabitat asli dari udara. Udara bukanlah lingkungan alami bagi bakteri, karena tidak mengandung cukup air dan nutrisi untuk mendukung pertumbuhan dan reproduksinya (Waluyo, 2016). Udara dalam ruang tertutup mengandung lebih sedikit bakteri dari jenis yang sama dibandingkan yang ditemukan diudara terbuka bakteri tersebut sebagian besar adalah saprofit dan bersifat non patogenik, tetapi dengan bertambahnya bakteri non patogenik dalam jumlah yang relative besar dapat berpotensi sama seperti bakteri patogenik (Pelczar, 2013)

Beberapa metode penangkapan bakteri udara antara lain dengan cara sedimentasi dan alat penangkap udara (*air sampler*). Ada banyak faktor yang mempengaruhi biaoerosol yang menentukan seberapa baik bagi kesehatan manusia. Faktor-faktor tersebut meliputi kehadiran dan efisiensi dari alat penyaring udara, desain dan operasi sistem sirkulasi udara, kesehatan dan kehygienisan dari penghuni ruangan, komponen

udara yang bersih sekitar bangunan, tipe pencahayaan, temperatur, dan kelembapan udara relatif (Pelczar, 2013).

a. Jenis bakteri 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, 2016)

b. Pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan adalah meningkatnya jumlah kuantitas massa sel dengan cara terbentuknya sel-sel baru. Terjadinya proses pertumbuhan tergantung dari kemampuan sel dalam membentuk protoplasma baru dari *nutrient* yang tersedia di lingkungan. Pada bakteri, pertumbuhan secara aseksual dan disebut dengan pembelahan biner. Pembelahan biner berlangsung dengan interval yang teratur dengan penambahan atau kelipatan secara eksponensial (Soedarto, 2015).

c. Fase pertumbuhan bakteri

Fase pertumbuhan bakteri merupakan fase pembelahan sel bakteri yang melalui beberapa fase yaitu, Fase lag, Fase *Logaritma/Exponensial*, Fase Stasioner dan Fase Kematian

1. Fase lag (fase penyesuaian)

Fase Lag merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi, tergantung pada komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikro organisme pada media sebelumnya (Soedarto, 2015).

2. Fase Logaritma / Exponensial

Fase Logaritma / eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial ini sangat dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya (Soedarto, 2015).

3. Fase Stasioner

Fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Sehingga jumlah bakteri keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel.

Fase stasioner ini dilanjutkan dengan fase kematian yang ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan, sehingga secara keseluruhan terjadi penurunan populasi bakteri (Soedarto, 2015).

4. Fase kematian

Fase Kematian merupakan fase dimana laju kematian lebih besar karena bakteri kekurangan nutrisi atau akibat terbentuknya zat metabolik toksik atau akibat kedua hal tersebut (Soedarto, 2015).

d. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

1. Nutrien

Nutrien atau zat makanan yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri harus mengandung sumber karbon, sumber nitrogen, mineral (sulfur, fosfat) dan faktor-faktor pertumbuhan yang meliputi asam amino, purin, pirimidin dan vitamin. Persyaratan untuk pertumbuhan bakteri beraneka ragam sesuai dengan jenis bakterinya. Beberapa bakteri dapat memperbanyak diri pada berbagai jenis nutrisi, sedangkan yang lain mempunyai kekhususan dan hanya membutuhkan jenis nutrisi tertentu untuk pertumbuhannya (Jawetz, 2008)

2. Suhu

Suhu optimal untuk pertumbuhan bagi bakteri sangat bervariasi tergantung pada jenis bakteri itu sendiri. Pada suhu

yang tepat (optimal), sel bakteri dapat memperbanyak diri dan tumbuh sangat cepat. Sedangkan pada suhu yang lebih rendah atau lebih tinggi, masih dapat memperbanyak diri, tetapi dalam jumlah yang lebih kecil dan tidak secepat jika dibandingkan dengan pertumbuhan pada suhu optimalnya. Berdasarkan rentang suhu dimana dapat terjadi pertumbuhan, bakteri dikelompokkan menjadi tiga yaitu:

- a) Psikofilik : $-5 - 30^{\circ}\text{C}$, optimum pada $10 - 20^{\circ}\text{C}$
- b) Mesofilik : $10 - 45^{\circ}\text{C}$, optimum pada $20 - 40^{\circ}\text{C}$
- c) Termofilik : $25 - 80^{\circ}\text{C}$, optimum pada $50 - 60^{\circ}\text{C}$

Suhu optimal biasanya mencerminkan lingkungan normal bakteri tersebut, oleh karena itu bakteri yang pathogen bagi manusia biasanya tumbuh optimal pada suhu 37°C (Boleng, 2015)

3. Kelembaban

Kelembaban sangat penting untuk pertumbuhan bakteri bakteri membutuhkan kelembaban tinggi, pada umumnya untuk pertumbuhan bakteri yang baik dibutuhkan kelembaban diatas 85%. Udara yang sangat kering dapat membunuh bakteri, tetapi kadar kelembaban minimum yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan bakteri bukanlah merupakan nilai pasti. Kandungan air atau kelembaban yang terjadi dan tersedia, bukan total kelembaban yang ada juga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Pelczar, 2013)

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, 2008)

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 yang tumbuh hanya dalam keadaan tekanan oksigen sangat rendah dan oksigen bersifat toksik.
- b. Anaerob aerotoleran yang tidak mati dengan adanya paparan oksigen.
- c. Anaerob fakultatif, dapat tumbuh dalam keadaan aero dan anaerob
- d. Aerob obligat membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya
- e. Mikroaerofilik yang tumbuh baik pada tekanan oksigen rendah, tekanan tinggi dapat menghambat pertumbuhannya (Boleng, 2015)

6. Konsentrasi ion hydrogen (pH)

pH pembenihan juga mempengaruhi kuman, kebanyakan kuma pathogen mempunyai pH optimum 7,2 – 7,6. Meskipun

suatu pembenihan pada mulanya baik bagi suatu kuman, tetapi pertumbuhan kuman selanjutnya juga akan terbatas Karena produk metabolisme kuman itu sendiri. Hal ini terutama dijumpai pada kuman yang bersifat fermentatif yang menghasilkan sejumlah besar asam-asam organik yang bersifat menghambat (Jawetz, 2008)

7. Tekanan osmotik

Suatu tekanan osmotik akan sangat mempengaruhi bakteri jika tekanan osmotik lingkungan lebih besar (hipertonis) sel akan mengalami plasmolysis. 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, 2008)

4. Angka kuman (Angka Lempeng total)

Angka lempeng total disebut juga angka lempeng heterotropik (*Heterotropic Plate Count / HPC*) yang merupakan indikator keberadaan mikroba heterotropik termasuk bakteri dan kapang yang sensitive terhadap proses desinfektan seperti bakteri coliform, mikroba resisten desinfektan seperti pembentukan spora dan mikroba

yang dapat berkembang cepat pada air olahan tanpa residu desinfektan (Kuswiyanto, 2015)

Angka lempeng total (ALT) merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada suatu sampel. Uji angka lempeng total yang biasanya disebut ALT Aerob mesofil atau anaerob mesofil menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang diamati secara visual berupa angka dalam koloni (CFU) per ml. prinsip pengujian ALT yaitu pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah sampel diinokulasikan pada media lempeng agar dengan metode pour plate dan diinkubasi pada suhu yang sesuai. Pada pengujian ALT menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA) sebagai media padatnya (Kuswiyanto, 2015)

Koloni yang tumbuh pada media tidak selalu berasal dari satu sel mikroba, karena beberapa mikroba ada yang cenderung mengelompok atau berantai. Suatu bakteri akan menghasilkan satu koloni apabila ditumbuhkan pada media dan lingkungan yang sesuai. Istilah *Colony Forming Unit* (CFU) digunakan untuk menghitung jumlah mikroba yang hidup dan menghasilkan satu koloni. Lempeng agar yang paling baik digunakan dalam perhitungan yaitu lempeng yang mengandung 25-250 koloni (BPOM RI,2006)

5. Perhitungan Angka Kuman

Menurut Bibiana (2010) jumlah bakteri dapat ditentukan dengan menggunakan beberapa cara:

a. Jumlah bakteri secara keseluruhan (*total cell count*)

Pada cara ini dihitung semua bakteri, baik yang hidup maupun yang mati.

b. Jumlah bakteri yang hidup (*Viable count*)

Pada cara ini hanya menggambarkan jumlah sel yang hidup sehingga lebih tepat dibanding teknik *total cell count*. Penghitung jumlah bakteri dengan cara *viable count* atau juga biasa disebut standart plate count didasarkan pada pendapat bahwa setiap sel mikroorganisme hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah diinkubasi dalam media biakan dan lingkungan yang sesuai. Setelah masa inkubasi, jumlah koloni yang tumbuh yang dihitung merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dalam suspensi tersebut.

Penentuan jumlah angka organisme sangat penting dilaksanakan untuk menetapkan keamanan suatu sediaan farmasi dan makanan. Berbagai metode telah dikembangkan untuk menghitung jumlah mikroorganisme. Menurut harmita dan radji (2008) ada empat macam cara yang umum digunakan untuk memperkirakan besar populasi sampel mikroorganisme, yaitu :

- a. Perhitungan langsung (*direct count*) dengan menghitung jumlah sel atau biomassa mikroorganisme dengan cara sel dihitung langsung dibawah mikroskop atau dengan menghitung partikel elektronik (*electronic particle counter*).
- b. Pengukuran langsung (*direct measurement*) yaitu perhitungan biomassa mikroorganisme dengan cara massa sel ditentukan dengan menimbang atau mengukur berat seluruh sel. Biomassa dapat dihubungkan dengan jumlah sel dengan membandingkannya dengan kurva standar.
- c. Perhitungan tidak langsung (*Indirect Count*) yaitu perhitungan jumlah sel dengan cara mikroorganisme dalam sampel dikonsentrasikan dan ditanam pada media yang sesuai dengan pertumbuhan mikroorganisme tersebut. Contohnya adalah pembentukan koloni dalam plate agar, digunakan untuk memperkirakan jumlah mikroorganisme yang terdapat didalam sampel.
- d. Perkiraan tidak langsung (*indirect estimate*) yaitu perhitungan biomassa mikroorganisme dengan cara memperkirakan biomassa mikroorganisme dengan mengukur komponen biokimia sel mikroorganisme yang relative konstan, seperti protein, adenosine trifosfat (ATP), lipopolisakarida, murein dan klorofil. Biomassa juga dapat diperkirakan secara tidak langsung dengan mengukur kekeruhan. Perkiraan tidak langsung biomassa mikroorganisme

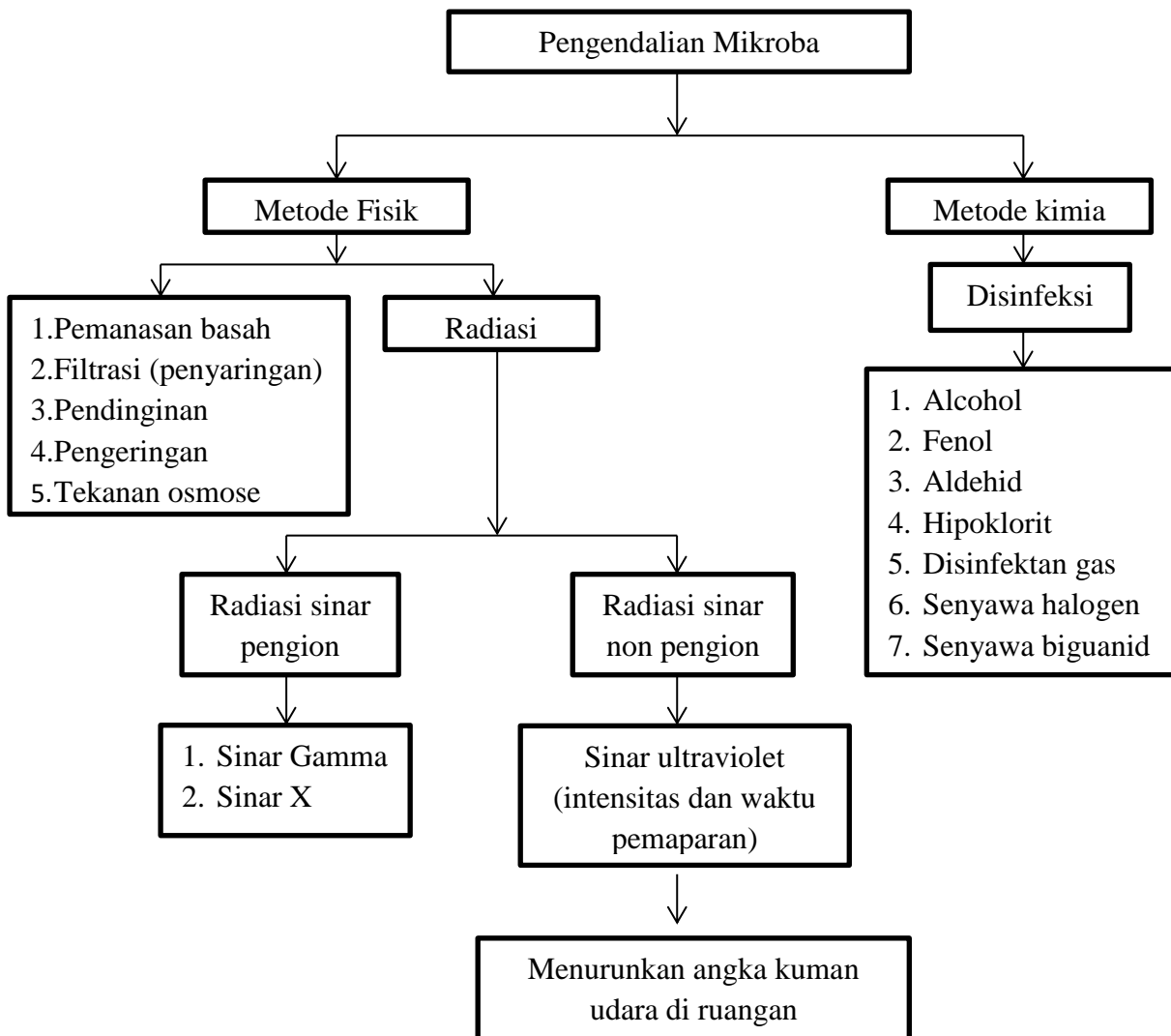
dapat dikorelasikan dengan jumlah sel dan membandingkannya dengan kurva standar.

6. Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan

Laboratorium bakteriologi merupakan salah satu laboratorium yang ada di Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Laboratorium bakteriologi digunakan untuk pembelajaran praktikum mahasiswa dan juga digunakan sebagai tempat penelitian yang berkaitan dengan bidang bakteriologi. Laboratorium ini terletak di bagian tengah dari kampus Jurusan Analis Kesehatan.

Laboratorium bakteriologi memiliki dua ruangan yaitu ruangan praktikum utama di sisi utara dan ruangan persiapan di sisi selatan. Ruangan utama berukuran 9×10 meter dan merupakan ruangan yang paling sering digunakan untuk pemeriksaan bakteriologi. Banyak pemeriksaan bakteriologi yang digunakan di ruang utama seperti pewarnaan gram, pewarnaan BTA, pewarnaan spora, identifikasi berbagai spesies bakteri, pemeriksaan sensitivitas antimikroba, pemeriksaan ISK, pemeriksaan sekret tenggorokan dan pemeriksaan bakteriologi pangan. Ruangan persiapan digunakan untuk penyimpanan serbuk agar dan reagen, melakukan autoklaf, menyimpan alat-alat kaca steril dan menyimpan media steril dalam kulkas (Ikawati, 2018)

B. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori (Volk dan Wheeler, 1988)

C. Hipotesis

Lampu UV dengan daya 60 watt mampu menurunkan angka kuman udara di laboratorium bakteriologi jurusan analis kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.