

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Permasalahan

Hasil laboratorium medis ditentukan dari penentuan diagnosis dan pemantauan pengobatan. Dari hasil laboratorium medis tersebut harus dapat dipercaya. Maka dari itu, dalam laboratorium medis perlu ada jaminan mutu. Dalam jaminan mutu terbagi menjadi 2 yaitu Pemantapan Mutu Internal (PMI) dan Pemantapan Mutu Eksternal (PME). Pemantapan Mutu Internal (PMI) merupakan kegiatan yang dilaksanakan laboratorium untuk memantau dan mengendalikan mutu pemeriksaan hasil laboratorium (Depkes, 2012)

Dalam bidang kesehatan laboratorium bakteriologi sebagai bagian dari laboratorium klinik harus melakukan kegiatan Pemantapan Mutu Internal (PMI) untuk memastikan akurasi, reabilitas dan reproduisibilitas dari bermacam tes yang digunakan dalam isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas antimikroba terhadap mikroorganisme (Tuntun, M., 2018)

Pemantapan mutu internal bakteriologi meliputi kualitas peralatan kualitas media, uji sensitivitas antibiotik, dan kultur standar. Stok kultur standar yang minimal harus dimiliki laboratorium bakteriologi meliputi , *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Bacillus subtilis*. Kultur standar bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat digunakan untuk mengetahui kualitas mutu media selektif *simmons citrate agar*, yang dalam pemeliharaannya dapat dilakukan dengan metode peremajaan secara berkala pada *nutrient agar* (Tuntun, M., 2018)

Proses perbanyakan dan penyimpanan bakteri memerlukan media yang berfungsi untuk menyediakan nutrisi bagi kelangsungan proses perbanyakan sel bakteri tersebut. Keberhasilan pembiakan tergantung pada prosedur pemilihan media dan usia kultur yang tepat saat pembiakan (Jawetz, 2014). Setelah diisolasi dan tumbuh dalam media murni, bakteri sangat penting untuk dijaga viabilitas dan kemurniannya agar menjaga kultur murni bebas dari kontaminasi. Biasanya di laboratorium, kultur bakteri murni dipindahkan secara berkala ke media segar (subkultur) untuk memungkinkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri yang berkelanjutan.

Saat memindahkan bakteri harus dalam kondisi aseptik untuk menghindari kontaminasi. Kekurangan subkultur yang dilakukan berulang kali adalah memakan waktu serta akan menjadi sulit untuk mempertahankan sejumlah besar media murni dengan waktu yang lama. Selain itu, ada risiko perubahan genetik sekaligus kontaminasi. Karena itu, saat ini dapat digantikan oleh beberapa metode modern yang tidak perlu sering disubkultur. Metode ini meliputi pendinginan, metode parafin, dan liofilisasi (*freeze drying*) (Acharya, 2010).

Cappuccino & Sharman menegaskan bahwa suhu yang rendah dapat memperlambat atau menghambat aktivitas enzim sehingga memperlambat atau menghambat metabolisme sel, dan akibatnya pertumbuhan sel juga diperlambat atau dihambat (Cappuccino, 2014).

Pada metode penyimpanan jangka panjang seperti minyak mineral, aquades steril, tanah steril, maupun liofilisasi harus dapat mempertahankan viabilitas atau kemampuan hidup dari bakteri yang dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti nutrisi, suhu, kadar air, tekanan osmosis, pH dan oksigen. Untuk mengetahui kemampuan hidup dari bakteri dapat dilakukan dengan metode Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) (Puspawati dkk, 2010)

Berdasarkan hal-hal tersebut peneliti bermaksud melakukan penelitian dengan judul “Uji Viabilitas dan Morfologi Liofilisat Bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang Disimpan Selama Dua Bulan pada Suhu -20°C”

B. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka rumusan masalah adalah bagaimana hasil uji viabilitas dan morfologi liofilisat bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C

C. Tujuan penelitian

1. Tujuan umum penelitian adalah :

Tujuan umum penelitian ini untuk mengetahui hasil uji viabilitas dan morfologi liofilisat bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C

2. Tujuan khusus penelitian ini adalah :
 - a. Mengetahui rerata Angka Lempeng Total (ALT) liofilisat bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebelum dan setelah disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C
 - b. Mengetahui morfologi liofilisat bakteri *Klebsiella pneumoniae* setelah disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C

D. Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini adalah bidang Teknologi Laboratorium Medis mencakup ilmu Bakteriologi.

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Memberikan informasi secara ilmiah mengenai hasil uji viabilitas dan pengamatan morfologi liofilisat bakteri *Klebsiella pneumoniae*
2. Manfaat praktis
 - a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi praktisi laboratorium dalam melakukan penyimpanan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan metode liofilisasi.
 - b. Praktisi laboratorium tidak perlu melakukan peremajaan berkala untuk menyediakan stok kultur bakteri murni

F. Keaslian Penelitian

1. Penelitian Supriatin, dkk. (2020) yang berjudul “ Penyimpanan Bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus pneumoniae* pada Media Cryoprotective dengan Metode *Freeze Drying*”. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan skim milk 10% dan gliserol 10% sebagai *cryoprotectan agent* dapat mempertahankan viabilitas sel *Escherichia coli* dengan persentase penurunan yang paling rendah 4,2% terjadi pada viabilitas sel *Escherichia coli* dengan penambahan skim milk 10% dengan metode *freeze drying*, namun kedua jenis *cryoprotectan agent* belum mampu mempertahankan viabilitas sel *Streptococcus pneumoniae* untuk semua waktu penyimpanan. Penelitian tersebut dilakukan selama 2, 4 dan 6 minggu. Persamaan dalam penelitian tersebut adalah penyimpanan bakteri dengan menggunakan metode pengeringan beku (*freeze drying*). Perbedaan dalam penelitian tersebut pada sampel bakteri yang digunakan, dimana pada penelitian tersebut menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus pneumoniae* sedangkan dalam penelitian ini menggunakan sampel *Klebsiella pneumoniae* selain itu juga perbedaan dalam jangka waktu penyimpanan.
2. Penelitian Dewi (2009) yang berjudul “Ketahanan Hidup Sel *Acetobacter xylinum* pada Pengawetan secara Kering-Beku Menggunakan Medium Pembawa”. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah sel hidup

tertinggi yang dapat dicapai pada proses pengeringan kultur selama 4 minggu pada bakteri *Acetobacter xylinum* (*A. xylinum*) secara *freeze drying* menggunakan medium pembawa sukrosa dan laktosa adalah $28,2 \times 10^6$ sel/ml bahan hasil rehidrasi menggunakan medium Schramm & Herstin, dan medium pembawa yang dapat melindungi sel *A. xylinum* lebih baik selama proses *freeze drying* adalah sukrosa dengan konsentrasi 15%. Persamaan dengan penelitian ini terdapat pada metode yang digunakan yaitu liofilisasi atau pengeringan beku (*freeze drying*) dan pengujian pada viabilitas bakteri yang telah dikeringkan. sedangkan perbedaannya terdapat pada kultur bakteri yang digunakan yaitu *Acetobacter xylinum* dan masa penyimpanan bakteri dalam penelitian tersebut selama empat hari sedangkan dalam penelitian ini adalah selama dua bulan.

3. Penelitian Chotiah (2016) yang berjudul “Pengaruh Proses *Freeze Drying* dan Penyimpanan pada Suhu Kamar terhadap Viabilitas dan Patogenitas Plasma Nutfah Mikroba *Pasteurella Multocida*”. Penelitian ini menggunakan media *MacConkey Agar* (MCA) dan uji biokimia sebagai re-identifikasi isolat koleksi BCC nomor B2331 bakteri *Pasteurella Multocida* dengan penyimpanan selama 1 hari, 1 bulan dan 2 bulan. Hasil dari penelitian ini adalah penggunaan medium preservan 7,5% glukosa serum kuda yang dipakai dalam konservasi plasma nutfah mikroba veteriner *Pasteurella Multocida* nomor BCC B2331 dapat menurunkan viabilitas dan patogenisitas, baik selama proses maupun setelah penyimpanan pada suhu kamar $\pm 27^\circ\text{C}$. Persamaan dalam penelitian tersebut adalah pada media identifikasi morfologi dimana menggunakan *MacConkey*

Agar (MCA) dan uji biokimia selain itu juga dalam penghitungan koloni bakteri menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT). Perbedaan dengan penelitian tersebut adalah pada bakteri yang digunakan. Pada penelitian tersebut menggunakan plasma nutfah mikroba veteriner *Pasteurella Multocida*

Sedangkan penelitian ini menggunakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* selain itu juga perbedaan suhu penyimpanan. Pada penelitian tersebut menggunakan suhu kamar $\pm 27^{\circ}\text{C}$ sedangkan penelitian ini -20°C .

4. Penelitian Rheiza (2020) yang berjudul “Gambaran Angka Lempeng Total (ALT) pada Bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 Sebelum dan Sesudah Diliofilisasi dan Disimpan 30 Hari pada Suhu 4°C ”.

Penelitian ini menggunakan media Plate Count Agar (PCA) dan uji angka lempeng total sebagai identifikasi isolat liofilisat *Klebsiella pneumoniae* dengan penyimpanan selama 30 hari pada suhu 4°C . Hasil dari penelitian ini adalah rerata hasil ALT bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 sebelum diliofilisasi sebesar $5,8 \times 10^5$ CFU/ml, sedangkan rerata hasil ALT bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 sesudah diliofilisasi sebesar $4,0 \times 10^5$ CFU/ml. Rerata hasil ALT sebelum diliofilisasi lebih banyak dibanding dengan rerata hasil ALT sesudah diliofilisasi dengan selisih sebesar $1,8 \times 10^5$ CFU/m. Persamaan dalam penelitian ini adalah penggunaan isolat bakteri yang sama, yaitu *Klebsiella pneumoniae* dan media Plate Count Agar (PCA) sementara perbedaan waktunya adalah lama penyimpanan selama 30 hari serta suhu tempat penyimpanan 4°C