

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Laboratorium bakteriologi yang merupakan bagian dari laboratorium klinik harus melakukan pemantapan mutu internal untuk memastikan keakuratan, reliabilitas dan reproduksibilitas dari berbagai pengujian yang digunakan dalam isolasi, identifikasi dan pengujian sensitivitas antimikroba terhadap mikroorganisme (Sukorini, dkk., 2010).

Pemantapan mutu internal adalah kegiatan pencegahan dan pengendalian yang dilakukan secara terus menerus oleh laboratorium itu sendiri untuk memperoleh hasil pemeriksaan yang tepat. Kegiatan pemantapan mutu internal meliputi tahap pra analitik, analitik dan paska analitik (KARS, 2017).

Pemantapan mutu internal Bakteriologi meliputi kualitas media, kualitas pewarna, uji kepekaan antibiotik, kultur standar dan kualitas peralatan. Kultur standar pada laboratorium bakteriologi meliputi *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus aureus*.

Kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa* digunakan untuk menentukan kualitas mutu media agar *Mueller-Hinton*, yang merupakan media terbaik untuk pemeriksaan uji sensitivitas bakteri dengan metode *Kirby-Bauer* (Atmojo, 2016). Koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media ini menghasilkan pigmen hijau kebiruan atau hijau kekuningan yang menyebar dengan lendir halus dan bau anggur (Collee, dkk., 1996).

Penyediaan stok kultur *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan peremajaan berkala, yaitu inokulasi berulang pada *nutrient agar*. Inokulasi berulang menimbulkan risiko kontaminasi sehingga harus dilakukan identifikasi untuk memperoleh kultur standar bakteri yang murni. Hal ini akan menimbulkan terjadinya penambahan biaya dan waktu pada pelaksanaan pemantapan mutu internal Bakteriologi. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode pengawetan atau preservasi yang dapat mempertahankan viabilitasnya (Puspawati, dkk, 2010). Metode pengawetan atau penyimpanan bakteri dapat dilakukan dengan berbagai teknik diantaranya peremajaan berkala, penyimpanan dalam akuades steril, penyimpanan dalam tanah steril, penyimpanan dalam minyak mineral dan penyimpanan dengan metode kering beku atau liofilisat (Sumarsih, 2014).

Pengeringan beku atau *freeze drying* merupakan teknik penyimpanan mikroba jangka panjang yang paling banyak digunakan. Teknik pengeringan beku menggunakan bahan pelindung atau lioprotektan yang ditambahkan sebelum proses liofilisasi untuk meminimalkan kerusakan sel bakteri. Garis besar tahapan ini mencakup penghilangan uap air dengan cara sublimasi vakum dari status beku. Sebelum proses pengeringan, teknik ini menggunakan salah satu dari dua metode pembekuan suspensi sel. Pada tahap pembekuan (*pre-freezing*), suspensi sel mikroba dapat dibekukan dengan menambahkan es kering (*dry ice*) dalam etanol. Alternatif lain adalah dengan cara pembekuan sentrifugal, dimana suspensi sel dibekukan dengan pendinginan dan penguapan pada kondisi vakum, sementara ampulnya diputar dengan

kecepatan rendah agar terhindar dari timbulnya buih. Selanjutnya suspensi ini akan dikeringkan dalam kondisi vakum kemudian disimpan pada suhu ruang di tempat gelap. Tetapi, kemampuan bertahan hidup jangka panjang mikroba dapat ditingkatkan dengan pendinginan atau penyimpanan di kulkas (Machmud, 2001).

Virus, khamir, bakteriofage, jamur, beberapa jenis alga dan protozoa dapat disimpan dalam kondisi beku untuk waktu yang lama dengan cara mereduksi sebagian besar aktivitas atau tingkat metabolisme mereka. Mikroorganisme tersebut disimpan dalam *freezer* yang bersuhu -20°C dan -70°C . Semakin rendah suhu penyimpanan, semakin kecil kemungkinan kehilangan viabilitasnya (Machmud, 2001).

Kemampuan hidup suatu bakteri yang dipengaruhi beberapa faktor seperti temperatur, pH dan kelembapan perlu diketahui melalui uji viabilitas atau uji ketahanan bakteri. Metode yang dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan hidup dan menghitung jumlah suatu bakteri adalah dengan perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) (Puspawati, dkk., 2010).

Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian yang berjudul “Uji Viabilitas dan Pengamatan Morfologi Liofilisat Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang Disimpan Selama Dua Bulan pada Suhu -20°C ”.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan penjelasan latar belakang dan identifikasi masalah diatas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah “Bagaimana viabilitas dan

morfologi liofilisat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui viabilitas dan morfologi liofilisat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C .

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui rerata ALT liofilisat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebelum dan setelah disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C
- b. Mengetahui morfologi liofilisat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* setelah disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C .

D. Ruang Lingkup

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

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai viabilitas dan pengamatan morfologi liofilisat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang disimpan selama dua bulan pada suhu -20°C

2. Manfaat Praktis

Manfaat praktis dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi praktisi laboratorium dalam melakukan penyimpanan bakteri dengan metode liofilisasi
- b. Praktisi laboratorium tidak perlu melakukan peremajaan berkala untuk menyediakan stok kultur bakteri murni

F. Keaslian Penelitian

1. Penelitian Chotiah (2006) yang berjudul Pengaruh Proses *Freeze Drying* dan Penyimpanan pada Suhu Kamar terhadap Viabilitas dan Patogenisitas Plasma Nutfah Mikroba *Pasteurella multocida*. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terjadi penurunan viabilitas bakteri yang telah disimpan selama 1 hari, 1 bulan dan 2 bulan. Jumlah bakteri dalam *colony forming unit* (CFU)/ml sebelum proses *freeze drying* adalah sebesar $5,1 \times 10^{11}$ CFU, sedangkan jumlah bakteri setelah proses *freeze drying* yang disimpan selama 1 hari, 1 bulan dan 2 bulan menjadi masing-masing sebesar $3,9 \times 10^{10}$ CFU, $3,9 \times 10^8$ CFU dan $5,7 \times 10^7$ CFU. Penurunan viabilitas sebanyak log 1 ini dinilai wajar karena penurunan viabilitas sampai log 2 merupakan hal yang biasa pada mikroba sensitif. Selain itu terjadi pula penurunan patogenisitas *Pasteurella multocida* seiring berjalannya waktu penyimpanan. Persamaan dengan penelitian ini terdapat pada metode pengeringan beku (*freeze drying*) atau liofilisasi dan uji viabilitas dengan

perhitungan jumlah bakteri, sedangkan perbedaannya terletak pada kultur bakteri yang digunakan yaitu *Pasteurella multocida*, suhu penyimpanan yang digunakan yaitu suhu kamar dan uji patogenisitas.

2. Penelitian Sharma, dkk. (2014) yang berjudul “*Standardization of Lyophilization Medium for Streptococcus thermophilus Subjected to Viability Escalation on Freeze Drying*”. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan viabilitas liofilisat bakteri *Streptococcus thermophilus* yang disimpan selama 180 hari pada suhu -8°C sebesar 5%, sedangkan pada suhu -60°C hanya terjadi penurunan kurang dari 1%. Selain itu dapat diketahui bahwa kombinasi natrium kaseinat, susu skim, sukrosa dan mono sodium glutamate yang diuji pada *Streptococcus thermophilus* NCIM 2904 sebagai lioprotektan menghasilkan viabilitas yang tinggi pada pengeringan beku (*freeze drying*). Persamaan dengan penelitian ini terdapat pada metode yang digunakan yaitu liofilisasi atau pengeringan beku (*freeze drying*) dan uji viabilitas, sedangkan perbedaannya terdapat pada bakteri yang digunakan yaitu *Streptococcus thermophilus*.
3. Penelitian Rusli, dkk. (2018) yang berjudul “*Viabilitas dan Virulensi Fusarium oxysporum f. sp. cubense yang Dipreservasi dengan Liofilisasi*”. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat 12 isolat *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* dalam bentuk liofilisasi selama 18 tahun yang tumbuh dengan baik, sedangkan tujuh isolat lain tidak mampu tumbuh pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Isolat-isolat tersebut memiliki

viabilitas yang berbeda-beda dan mampu tumbuh pada 2–5 hari setelah inkubasi. Selain itu, virulensi masing-masing isolat sangat bervariasi. Persamaan dengan penelitian ini terdapat pada metode liofilisasi atau pengeringan beku (*freeze drying*) dan uji viabilitas, sedangkan perbedaannya terdapat pada media, penentuan viabilitas, uji virulensi dan sampel yang digunakan yaitu *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.