

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Laboratorium bakteriologi sebagai bagian dari laboratorium klinik harus melakukan kegiatan Pemantapan Mutu Internal (PMI) untuk memastikan akurasi, reabilitas dan reproduibilitas dari bermacam tes yang digunakan dalam isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas antimikroba terhadap mikroorganisme (Sukorini, dkk., 2010). Pemantapan Mutu Internal (PMI) laboratorium bakteriologi meliputi kualitas media, kualitas pewarna, uji sensitivitas antibiotik, kultur standar dan kualitas peralatan. Kultur standar pada laboratorium bakteriologi meliputi *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

*Bacillus subtilis* adalah bakteri Gram positif berbentuk batang berantai yang dapat membentuk endospora berbentuk oval di bagian sentral sebagai pertahanan sel dari faktor luar yang tidak menguntungkan. Kultur bakteri *Bacillus subtilis* digunakan di laboratorium bakteriologi untuk mengetahui kualitas standar mutu pewarnaan spora yang pemeliharaannya biasanya dilakukan dengan teknik peremajaan secara berkala dengan cara inokulasi berulang.

Teknik penyimpanan dan pemeliharaan bakteri yaitu dengan peremajaan berkala, penyimpanan dalam akuades steril, penyimpanan dalam minyak mineral, penyimpanan dalam tanah steril, dan penyimpanan teknik kering beku atau liofilisasi. Teknik penyimpanan dan pemeliharaan bakteri

dengan peremajaan berkala dengan cara inokulasi berulang pada media agar atau media tumbuh yang baru dapat berisiko terkontaminasi sehingga perlu dilakukan identifikasi untuk memperoleh kultur standar bakteri yang murni. Hal tersebut mengakibatkan penambahan biaya dan waktu pada pelaksanaan PMI laboratorium bakteriologi.

Teknik liofilisasi (*lyophilization*) adalah teknik penyimpanan kering beku dengan penambahan lioprotektan sebelum proses liofilisasi untuk meminimalisir kerusakan sel bakteri. Teknik ini merupakan kombinasi dua teknik penyimpanan jangka panjang yang paling baik, yaitu pembekuan dan pengeringan. Penelitian oleh Davis (1963) menyimpulkan bahwa dari total 277 kultur mikroba yang diliofilisasi dan disimpan selama 21 tahun, hanya tiga kultur yang gagal tumbuh dari bentuk liofilisat. Penelitian oleh Harrison dan Pelczar (1963) menunjukkan bahwa tujuh spesies *Bacillus* telah dipertahankan beku selama 2-3 tahun tanpa perubahan morfologi, karakteristik kultur atau sifat fisiologis yang terdeteksi. Teknik ini memungkinkan biakan mikroba dapat diproduksi dalam jumlah besar dan banyak mikroba yang disimpan dengan cara ini dapat bertahan hidup hingga bertahun-tahun bahkan puluhan tahun tetapi beberapa mikroba memerlukan media pengawet tertentu yang sesuai (Machmud, 2001).

Penyimpanan mikroba setelah proses kering beku pada temperatur tinggi akan menyebabkan kehilangan viabilitas (Rudge, 1991), karena itu penyimpanan mikroba yang sensitif sebaiknya menggunakan kulkas atau pada suhu rendah. Penelitian oleh Chotiah (2006) menunjukkan terjadi penurunan

viabilitas liofilisat pada dua bulan setelah penyimpanan pada suhu kamar ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ ) sebanyak  $8,2 \times 10^2$  CFU/ml. Mikroba dapat disimpan lama dalam kondisi beku dengan cara mereduksi sebagian besar aktivitas atau kecepatan metabolismenya. Penyimpanan dapat menggunakan pendingin yang bersuhu  $-20^{\circ}\text{C}$  dan  $-70^{\circ}\text{C}$ . Semakin rendah suhu penyimpanan, semakin kecil peluang kehilangan viabilitasnya (Machmud, 2001).

Uji viabilitas atau uji ketahanan bakteri dapat dilakukan dengan membandingkan antara jumlah total bakteri sebelum dan setelah pengeringan beku dengan metode perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) (Fu dan Etzel, 1995). Pengamatan morfologi liofilisat bakteri dilakukan secara makroskopis dengan pengamatan koloni serta secara mikroskopis dengan pewarnaan dan uji biokimia untuk mengetahui kualitas bakteri setelah proses liofilisasi dan penyimpanan dalam waktu tertentu. Berdasarkan hal tersebut, peneliti bermaksud melakukan penelitian dengan judul "Uji Viabilitas Liofilisat dan Pengamatan Morfologi Liofilisat Bakteri *Bacillus subtilis* yang Disimpan Selama Dua Bulan pada Suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ ."

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang masalah maka rumusan masalah penelitian ini adalah "Bagaimana viabilitas dan morfologi liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* yang disimpan selama dua bulan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ ?"

### **C. Tujuan Penelitian**

#### 1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui viabilitas dan morfologi liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* yang disimpan selama dua bulan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$

#### 2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui rerata Angka Lempeng Total (ALT) liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* sebelum dan setelah disimpan selama dua bulan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$
- b. Mengetahui morfologi liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* setelah disimpan selama dua bulan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **D. Ruang Lingkup**

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

### **E. Manfaat Penelitian**

#### 1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi secara ilmiah mengenai hasil uji viabilitas dan morfologi liofilisat bakteri *Bacillus subtilis* yang disimpan selama dua bulan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### 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 dan pemeliharaan bakteri dengan metode liofilisasi.
- b. Praktisi tidak perlu melakukan peremajaan berkala untuk menyediakan stok kultur standar bakteri murni.

#### **F. Keaslian Penelitian**

1. Penelitian Chotiah (2006) yang berjudul “Pengaruh Proses *Freeze-Drying* dan Penyimpanan pada Suhu Kamar terhadap Viabilitas dan Patogenitas Plasma Nutfah Mikroba *Pasteurella multocida*”. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan viabilitas pada satu hari setelah proses, satu bulan dan dua bulan setelah penyimpanan pada suhu kamar masing-masing sebanyak  $1,3 \times 10^1$  CFU,  $1,3 \times 10^3$  CFU dan  $9,5 \times 10^3$  CFU. Penyimpanan pada suhu kamar ( $\pm 27^\circ\text{C}$ ) akan menurunkan viabilitas sebanyak  $10^2$  CFU dan  $8,2 \times 10^2$  CFU/ml. Persamaan dengan penelitian ini terdapat pada metode liofilisasi dan perhitungan jumlah bakteri untuk uji viabilitas, sedangkan perbedaannya pada penelitian ini menggunakan *Pasteurella multocida* sebagai subyek penelitian, suhu penyimpanan yaitu pada suhu kamar  $\pm 27^\circ\text{C}$  dan uji patogenitas.
2. Penelitian Sharma, dkk. (2013) yang berjudul “*Standardization of Lyophilization Medium for Streptococcus thermophilus Subjected to Viability Escalation on Freeze Drying*”. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi natrium kaseinat, susu skin, sukrosa dan mononatrium glutamat diuji pada *Streptococcus thermophilus*

NCIM 2904 sebagai *cryoprotectant* yang menghasilkan viabilitas lebih tinggi pada pengeringan beku. Persamaan dengan penelitian ini terdapat pada metode liofilisasi dan perhitungan jumlah bakteri, sedangkan perbedaannya yaitu pada penelitian ini menggunakan jenis bakteri *Streptococcus thermophiles* sebagai subyek penelitian.

3. Penelitian Rusli, dkk. (2018) dengan judul “Viabilitas dan Virulensi *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* yang Dipreservasi dengan Liofilisasi”. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa viabilitas 12 isolat dari total 19 isolat *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) yang telah dipreservasi dengan liofilisasi selama 18 tahun, mampu tumbuh dengan baik pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Adapun 7 isolat lainnya tidak mampu tumbuh pada media PDA. Persamaan dengan penelitian ini terdapat pada metode liofisasi dan uji viabilitas, sedangkan perbedaannya adalah penelitian ini menggunakan sampel isolat *Foc* dan pengujian virulensi sampel.