

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penting untuk mengoptimalkan proses pemanasan supaya media pertumbuhan bakteri menjadi steril dengan kerusakan seminimal mungkin. Oleh sebab itu diperlukan petunjuk umum saat melakukan proses pemanasan walaupun dengan resiko bahwa pemanasan dapat merusak media secara langsung karena reaksi diantara komponen-komponen media ataupun karena produk *toxin* yang terbentuk akibat pemanasan. Pemanasan media pertumbuhan bakteri yang mengandung nutrisi kompleks seperti peptida, gula, mineral, dan logam akan menyebabkan destruksi/kerusakan nutrisi. Produk beracun yang disebabkan oleh proses kemooksidasi dapat terbentuk selama pemanasan (Suprapti, Heruwati, dan Sukesi; 2020).

Pemanasan dapat berdampak pada perubahan komposisi media berupa penguraian kandungan yang mendukung pertumbuhan bakteri seperti vitamin, asam amino, dan asam lemak, serta merubah pH. Pencegahan agar pemanasan tidak berdampak negatif adalah dengan proses sterilisasi media yang cukup dilakukan satu kali. Media pertumbuhan bakteri disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 116-118°C untuk mencegah dekomposisi/penguraian karbohidrat berupa gula dan pembentukan formasi senyawa toksik yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Hafsan, 2014).

Hal yang perlu untuk diperiksa sebelum media digunakan adalah pH dan sterilitas media pertumbuhan (Baird, Hodges, dan Denyer, 2005). Kebanyakan kuman patogen tumbuh optimal pada pH 6.5 – 7.5, umumnya bakteri tidak tumbuh pada pH terlalu asam atau basa. Media PCA memiliki pH optimal 7.0 ± 0.2 pada suhu akhir $\pm 25^\circ\text{C}$, sehingga media ini baik untuk pertumbuhan bakteri (Yusmaniar, Wardiyah, dan Nida; 2017). Menurut Hafsan (2014), bahwa sebaiknya tidak melakukan sterilisasi media dengan pH > 7.5 (untuk mengatasinya, sterilisasi pada pH netral kemudian diatur pH menjadi basa dengan larutan basa steril). Tidak melakukan sterilisasi larutan agar dengan pH < 6.

Media yang telah dibuat disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 2-8°C. Media pertumbuhan bakteri yang akan digunakan, lalu dikeluarkan terlebih dahulu pada suhu ruang sebelum digunakan sebelum dipanaskan pada suhu 46±1°C menggunakan *water bath*. Ketinggian air didalam *water bath* harus sama dengan media untuk menghindari air masuk kedalam media. Wadah air harus diganti secara teratur untuk menghindari kontaminasi. Media lebih baik digunakan sesegera mungkin setelah dipanaskan. Penggunaan media dianjurkan tidak lebih dari 4 jam setelah pemanasan (Baird, Hodges, dan Denyer, 2005).

Waktu penyimpanan media komersial sangat beragam, umumnya untuk media komersial disimpan pada suhu 5±3°C. Media cawan tidak disarankan disimpan melebihi 2-4 minggu, sedangkan media cair selama 3-6 bulan. Media yang ditambah suplemen sebaiknya dipakai pada hari yang sama saat pembuatan (Hafsan, 2014).

Media *Plate Count Agar* (PCA) merupakan media pertumbuhan bakteri yang biasanya digunakan untuk pemeriksaan kualitas bahan makanan dan minuman. Komposisi media PCA berupa *casein enzymic hydrolysate* yang menyediakan asam amino, nitrogen kompleks, dan *yeast extract* yang mensuplai vitamin B kompleks. Media *Plate Count Agar* (PCA) atau yang disebut *Standard Methods Agar* (SMA) adalah media yang pertama kali dikembangkan atas permintaan dari *American Public Health Association* (APHA). Industri dibidang makanan dan produk susu sudah menerapkan perhitungan jumlah total bakteri pada sampel mereka sesuai dengan standar yang ada menggunakan *Plate Count Agar* (PCA) (Buchbinder, Baris, dan Goldstein, 1953 dalam Putri, Sukini, dan Yodong; 2017).

Penelitian Wati (2018), dengan sampel sala lauk didapatkan bahwa koloni bakteri yang tumbuh pada media PCA setelah pemanasan 1x adalah 1,21 x 10⁶ koloni/ml dan koloni bakteri yang tumbuh pada media PCA setelah pemanasan 5x adalah 8,4 x 10⁵ koloni/ml. Nilai pH media PCA setelah pemanasan 1x adalah 7.00 dan setelah pemanasan 5x yaitu 6.33. Koloni bakteri yang tumbuh pada media PCA semakin sedikit dan nilai pH semakin menurun setelah pemanasan berulang.

Jurusan Analis Kesehatan memiliki Laboratorium Bakteriologi yang berfungsi sebagai laboratorium untuk melakukan praktikum di bidang bakteriologi seperti mengamati bakteri secara mikroskopis, pengecatan bakteri, identifikasi bakteri, isolasi bakteri, kemudian penelitian seperti hitung jumlah total bakteri, uji resistensi, uji biokimia, isolasi bakteri, ataupun identifikasi bakteri semuanya memerlukan media pertumbuhan bakteri. Media yang sering digunakan untuk hitung jumlah bakteri adalah Media *Plate Count Agar* (PCA). Media pertumbuhan bakteri yang disimpan dalam kulkas akan dipanaskan kembali saat akan digunakan untuk praktikum. Penelitian yang dilakukan didasari observasi yang dilakukan penulis pada September 2020 karena pemanasan berulang masih dilakukan di Laboratorium Bakteriologi.

B. Rumusan masalah

Bagaimana pengaruh pemanasan media PCA 1x, 2x, 3x, dan 4x terhadap pH dan jumlah koloni bakteri?

C. Tujuan

1. Tujuan umum

Mengetahui pengaruh pemanasan media PCA 1x, 2x, 3x, dan 4x terhadap pH dan jumlah koloni bakteri.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui pH media PCA setelah pemanasan 1x, 2x, 3x, dan 4x.
- b. Mengetahui jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari suspensi bakteri setelah media PCA steril, dipanaskan 1x, 2x, 3x, dan 4x.

D. Manfaat

1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan referensi untuk penelitian selanjutnya.

2. Manfaat Aplikatif

Dapat menjadi pedoman pemanasan media PCA steril di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan.

E. Ruang lingkup

Bidang studi penelitian ini adalah Bakteriologi yang bersifat eksperimen. Variabel bebas adalah pemanasan media PCA 1x, 2x, 3x, dan 4x. Variabel terikat adalah pH media PCA setelah pemanasan 1x, 2x, 3x, 4x dan jumlah koloni bakteri dari suspensi bakteri yang setara dengan Standar Mac Farland 0,5 setelah media PCA dipanaskan 1x, 2x, 3x, dan 4x. Desain penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap dengan metode penelitian *pour plate*. Pemeriksaan dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Tanjungkarang pada bulan Mei-Juni 2021. Data yang telah diolah akan dianalisis menggunakan ANOVA kemudian dilanjutkan dengan Uji BNT.