

BAB 4

PERTUMBUHAN DAN KONTROL BAKTERI

A. NUTRISI PERTUMBUHAN BAKTERI

Semua bentuk kehidupan mempunyai persamaan dalam hal persyaratan nutrisi berupa zat-zat kimiawi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan aktivitas lainnya. Nutrisi bagi pertumbuhan bakteri, seperti halnya nutrisi untuk organisme lain mempunyai kebutuhan akan sumber nutrisi, yaitu:

1. Bakteri membutuhkan sumber energi yang berasal dari energi cahaya (fototrof) dan senyawa kimia (kemotrof).
2. Bakteri membutuhkan sumber karbon berupa karbon anorganik (karbon dioksida) dan karbon organik (seperti karbohidrat).
3. Bakteri membutuhkan sumber nitrogen dalam bentuk garam nitrogen anorganik (seperti kalium nitrat) dan nitrogen organik (berupa protein dan asam amino).
4. Bakteri membutuhkan beberapa unsur logam (seperti kalium, natrium, magnesium, besi, tembaga dsb).
5. Bakteri membutuhkan air untuk fungsi – fungsi metabolik dan pertumbuhannya.

Bakteri dapat tumbuh dalam medium yang mengandung satu atau lebih persyaratan nutrisi seperti di atas. Keragaman yang luas dalam tipe nutrisi bakteri, memerlukan penyiapan medium yang beragam untuk menumbuhkannya. Medium pertumbuhan bakteri dapat dikelompokkan berdasarkan kriteria, seperti berdasarkan sumbernya, tujuan kultivasi, status fisik dsb. Beberapa media untuk pertumbuhan bakteri dapat dilihat dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1 Beberapa medium pertumbuhan bakteri

DASAR PENGGELOMPOKKAN	CIRI	CONTOH
Sumber nutrisi	Alamiah Buatan	Susu Campuran zat-zat kimia
Status fisik	Padat Semi padat Cair	Kaldu agar Agar lunak Kaldu cair
Identifikasi bakteri	Kompleks (komposisi kimia tak diketahui)	Agar nutrisi
Menunjang pertumbuhan	Medium pengaya	Kaldu infusi jantung

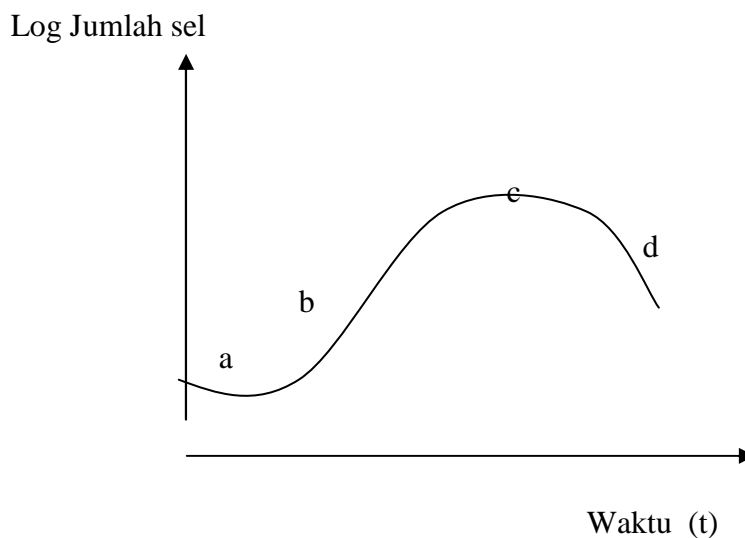
bakteri sulit tumbuh		
Perbedaan pertumbuhan	Medium diferensial	Agar eosin metilin biru (EMB)-agar
Pertumbuhan selektif	Medium selektif	Salmonella-Shigella agar
Pengukuran kuantitatif vitamin dan antibiotik	Medium uji	Medium uji vitamin B12

B. PERTUMBUHAN BAKTERI

1. Kurva Pertumbuhan Bakteri.

Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai pertambahan jumlah atau volume serta ukuran sel. Pada organisme prokariot seperti bakteri, pertumbuhan merupakan pertambahan volume dan ukuran sel dan juga sebagai pertambahan jumlah sel. Pertumbuhan sel bakteri biasanya mengikuti suatu pola pertumbuhan tertentu berupa kurva pertumbuhan sigmoid (Gambar 4-1)

Perubahan kemiringan pada kurva tersebut menunjukkan transisi dari satu fase perkembangan ke fase lainnya. Nilai logaritmik jumlah sel biasanya lebih sering dipetakan daripada nilai aritmatik. Logaritma dengan dasar 2 sering digunakan, karena setiap unit pada ordinat menampilkan suatu kelipatan-dua dari populasi. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dipisahkan menjadi empat fase utama : fase lag (fase lamban atau lag phase), fase pertumbuhan eksponensial (fase pertumbuhan cepat atau log phase), fase stationer (fase statis atau stationary phase) dan fase penurunan populasi (decline). Fase-fase tersebut mencerminkan keadaan bakteri dalam kultur pada waktu tertentu. Di antara setiap fase terdapat suatu periode peralihan dimana waktu dapat berlalu sebelum semua sel memasuki fase yang baru.



Gambar 4.1. Kurva Pertumbuhan Bakteri, menunjukkan empat fase pertumbuhan: a= fase lag; b=fase eksponensial; c=fase stasioner dan d=fase kematian populasi (sumber: Brock & Madigan,1991)

FASE LAG. Setelah inokulasi, terjadi peningkatan ukuran sel, mulai pada waktu sel tidak atau sedikit mengalami pembelahan. Fase ini, ditandai dengan peningkatan komponen makromolekul, aktivitas metabolik, dan kerentanan terhadap zat kimia dan faktor fisik. Fase lag merupakan suatu periode penyesuaian yang sangat penting untuk penambahan metabolit pada kelompok sel, menuju tingkat yang setaraf dengan sintesis sel maksimum.

FASE LOG/PERTUMBUHAN EKSPONENSIAL. Pada fase eksponensial atau logaritmik, sel berada dalam keadaan pertumbuhan yang seimbang. Selama fase ini, masa dan volume sel meningkat oleh faktor yang sama dalam arti rata-rata komposisi sel dan konsentrasi relatif metabolit tetap konstan. Selama periode ini pertumbuhan seimbang, kecepatan peningkatan dapat diekspresikan dengan fungsi eksponensial alami. Sel membelah dengan kecepatan konstan yang ditentukan oleh sifat intrinsik bakteri dan kondisi lingkungan. Dalam hal ini terdapat keragaman kecepatan pertumbuhan berbagai mikroorganisme. Waktu lipat dua untuk *E. coli* dalam kultur kaldu pada suhu 37°C, sekitar 20 menit, sedangkan waktu lipat dua minimal sel mamalia sekitar 10 jam pada temperatur yang sama.

FASE STASIONER. Pada saat digunakan kondisi biakan rutin, akumulasi produk limbah, kekurangan nutrisi, perubahan pH, dan faktor lain yang tidak diketahui akan mendesak dan mengganggu biakan, mengakibatkan penurunan kecepatan pertumbuhan. Selama fase ini, jumlah sel yang hidup tetap konstan untuk periode yang berbeda, bergantung pada bakteri, tetapi akhirnya menuju periode penurunan populasi. Dalam beberapa kasus, sel yang terdapat dalam suatu biakan yang populasi selnya tidak tumbuh dapat memanjang, membengkak secara abnormal, atau mengalami penyimpangan, suatu manifestasi pertumbuhan yang tidak seimbang.

FASE PENURUNAN POPULASI ATAU FASE KEMATIAN. Pada saat medium kehabisan nutrisi maka populasi bakteri akan menurun jumlahnya, Pada saat ini jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup.

2. Kecepatan/Laju Pertumbuhan dan Waktu Generasi.

Pengetahuan mengenai kecepatan pertumbuhan bersifat penting dalam menentukan keadaan atau status kultur sebagai kesatuan. Jika satu dugaan waktu lipat-dua jumlah sel bakteri awal N_0 pada waktu g , konsentrasi akhir mikroorganisme N_t ialah:

$$N_t = N_0 \cdot 2^n \quad \dots\dots\dots (1)$$

Dimana n adalah jumlah pembelahan sel pada waktu t . Persamaan

$$g = \frac{t}{n} \quad \dots\dots\dots (2)$$

mengekspresikan waktu lipat-dua atau waktu generasi. Istilah waktu lipat-dua menampilkan waktu generasi rata-rata dalam biakan sebagai kesatuan, biasanya ditentukan oleh kelipatan-dua masa mikroba dalam biakan. Sebaiknya waktu generasi ditentukan dengan perhitungan. Peningkatan massa sel ditentukan dalam interval waktu yang diketahui dan waktu generasi dihitung dari nilai yang diperoleh.

Persamaan (2) disusun kembali menjadi :

$$n = \frac{t}{g}$$

Kemudian dimasukkan ke dalam persamaan (1), maka

$$N_t = N_0 \cdot 2^n \quad (1) \qquad N_t = N_0 \cdot 2^{t/g} \quad (3)$$

Dengan mengkonversi mejadi bentuk logaritmik, maka diperoleh

$$g = \frac{\ln 2 \cdot t}{\ln N_t - \ln N_0} = \frac{0,69 \cdot t}{\ln N_t - \ln N_0} \quad (4)$$

Persamaan (4) merupakan rumus untuk menghitung waktu generasi dari dua pengukuran yang memberikan peningkatan masa pada waktu t . Pengukuran harus dilakukan dalam kondisi konstan, dan sebaiknya sejumlah mikroorganisme ditentukan sebagai berat kering.

Untuk menghitung laju pertumbuhan spesifik atau laju pertumbuhan

eksponensial suatu mikroorganisme, digunakan bentuk logaritmik dengan persamaan (3) :

$$\ln N_t = t \frac{\ln 2}{g} + \ln N_0 \quad (5)$$

Untuk fase pertumbuhan eksponensial, ekspresi $(\ln 2)/g$ konstan. Oleh karena itu, pada persamaan (5) kita dapat menggantinya dengan μ . Menghasilkan persamaan :

$$\ln N_t = \mu t + \ln N_0 \quad (6)$$

Ketika nilai t dipetakan pada absis dan nilai $\ln N_t$ pada ordinat, diperoleh garis lurus dan μ konstan merupakan lereng dari garis lurus tersebut. Hal tersebut menentukan laju pertumbuhan masa bakteri sebagai fungsi waktu. Oleh karena itu disebut laju pertumbuhan spesifik (specific growth rate atau instantaneous growth rate) konstan. Nilainya dapat ditentukan dengan grafik atau dengan perhitungan :

$$\mu = \frac{\ln 2}{g} = \frac{0,69}{g} \quad (7)$$

atau dapat dihitung langsung dari persamaan (6):

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{\Delta t} \quad (8)$$

dimana waktu t merupakan interval waktu $t_1 - t_2$ selama masa bakteri meningkat menjadi nilai N_t .

Laju pertumbuhan instantaneous (spesifik untuk setiap mikroorganisme dan medium biakan. Hal tersebut awalnya dibentuk oleh faktor-faktor seperti kapasitas pertumbuhan mikroorganisme tetapi dipengaruhi oleh lingkungan. Dalam mengekspresikan nilai maksimum yang ril, nilai yang tercatat untuk fase eksponensial pada kurva pertumbuhan, biakan harus tumbuh di bawah kondisi lingkungan optimal pada medium yang tidak dibatasi oleh kelebihan substrat dan faktor pertumbuhan, jadi laju pertumbuhan tidak bergantung pada faktor tersebut.

C. PENGHITUNGAN POPULASI BAKTERI

Pada saat ditempatkan dalam medium nutrisi lengkap, sel bakteri tumbuh lebih besar dan akhirnya membelah menjadi dua sel. Hal ini berkesinambungan dengan produksi populasi vegetatif sel yang tidak terdiferensiasi. Dalam perkembangan biakan bakteri, terjadi peningkatan massa sel dan jumlah organisme, tetapi hubungan kedua parameter tersebut tidak konstan. Penelitian kuantitatif perlu dilakukan terhadap pertumbuhan sel, oleh karena itu perlu dicatat perbedaan antara konsentrasi sel, atau jumlah sel per unit volume biakan, dengan kepadatan bakteri, yang didefinisikan sebagai protoplasma total per unit volume.

Massa sel ditentukan langsung dalam berat kering. Metode tersebut, memakan-waktu, khususnya menggunakan referensi dalam isolasi dan pemurnian dan dalam kalibrasi dasar metode lain. Metode yang sering digunakan untuk menaksir berat atau jumlah biomassa total dalam suspensi ialah mengukur densitas optik kultur kaldu dengan spektrofotometer. Teknik turbidimetrik, secara khusus digunakan untuk menentukan masa sel selama pertumbuhan, sebagai evaluasi terhadap efek zat antibakteri terhadap bakteri. Metode lain untuk menentukan berat atau jumlah sel, dengan menentukan nitrogen dan mengukur volume sel yang telah disentrifugasi.

Jumlah bakteri dalam suatu biakan dapat ditentukan dengan menghitung langsung jumlah keseluruhan bakteri atau dengan cara tidak langsung, menghitung jumlah sel yang hidup. Jumlah total bakteri yang hidup dan mati dapat dilakukan dengan menggunakan alat penghitung seperti Petroff-Houser counter, atau cara yang lebih tepat dengan Coulter counter, suatu alat penghitung partikel elektronik yang mengukur penyebaran ukuran dan jumlah dalam suspensi bakteri.

Untuk menghitung jumlah yang hidup, diperlukan pembiakan pada permukaan lempeng agar. Populasi mikroorganisme diencerkan dalam pelarut nontoksik, dan populasi yang tercampur rata disebarkan dalam atau pada medium padat yang sesuai, jadi setelah inkubasi setiap unit yang hidup membentuk satu koloni. Jumlah individu yang hidup atau cluster yang ada ditentukan dari jumlah koloni dan pengenceran. Sampel yang mengandung mikroorganisme lebih dari 100 sel per mililiter, seperti urin atau dari sumber air minum, memerlukan pemekatan sebelum dilakukan penghitungan. Hal ini dilakukan melalui filter membran steril dengan ukuran pori yang dapat menahan semua bakteri, selanjutnya membran

dipindahkan ke suatu lapisan absorben yang jenuh oleh kaldu nutrien.

D. FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PERTUMBUHAN

BAKTERI

Pertumbuhan didefinisikan sebagai peningkatan seluruh unsur pokok kimia sel. Hal tersebut merupakan suatu proses yang memerlukan replikasi seluruh struktur, organel, dan komponen protoplasma seluler dengan adanya nutrien dalam lingkungan sekelilingnya. Dalam pertumbuhan bakteri, semua substansi esensial harus tersedia untuk sintesis dan pemeliharaan protoplasma, dengan sumber energi, dan kondisi lingkungan yang sesuai.

Sebagai suatu kelompok, bakteri merupakan organisme yang sangat “pintar”. Mereka memperlihatkan kemampuan yang sangat besar dalam menggunakan bahan makanan yang tersebar, menyusun bahan anorganik menjadi senyawa organik yang sangat kompleks. Beberapa spesies juga belajar tumbuh pada berbagai relung ekologi dengan temperatur, keasaman, dan tekanan oksigen yang ekstrim. Kemampuan bakteri untuk bertahan di bawah keadaan sekitar yang demikian merupakan perlindungan dari adaptabilitas tinggi dan refleks kapasitasnya dalam keberhasilan merespon suatu stimulus yang dianggap asing atau tidak pernah ditemui sebelumnya.

1. Faktor Nutrisi

Karbon. Dua pola dasar kebutuhan nutrisi bakteri dan cermin kemampuan metabolisme yang dimilikinya disajikan dalam Tabel 4-2. Bakteri Autotrofik (litotrof), untuk pertumbuhannya hanya membutuhkan air, garam anorganik dan karbon dioksida. Kelompok ini mensintesis karbon dioksida menjadi sebagian besar metabolit organik esensial. Bakteri heterotrofik (organotrof) membutuhkan karbon organik untuk pertumbuhannya. Dalam praktek laboratorium, glukosa secara luas digunakan sebagai sumber karbon organik, tetapi berbagai senyawa lain juga dapat digunakan secara khusus atau sumber karbon tertentu oleh bakteri yang berbeda. Di antara bakteri yang “pintar”, *Pseudomonas* menggunakan lebih dari 100 senyawa organik yang berbeda sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi.

**Tabel 4-2. Klasifikasi Bakteri Berdasarkan Sumber Karbon dan Energi
(Sumber: Brock & Madigan,1991).**

Tipe	Sumber Karbon	Sumber Energi	Donor elektron	Contoh
Fotolitotrof	CO ₂	Cahaya	Senyawa organik (H ₂ S, S)	Bakteri sulfur ungu/hijau
Fotoorganotrof	Senyawa Organik (Sebagai tambahan	Cahaya terhadap CO ₂)	Senyawa organik	Bakteri nonsulfur Ungu
Kemolitotrof	CO ₂	Reaksi Redoks	Senyawa organik (H ₂ , S, H ₂ S, NH ₃ , Fe)	Bakteri denitrifikasi
Kemoorganotrof	CO ₂	Reaksi Redoks	Senyawa organik (Glukosa),	Sebagian besar bakteri

Faktor Pertumbuhan. Sejumlah bakteri heterorofik tidak dapat tumbuh tanpa suplai satu atau lebih faktor pertumbuhan. Senyawa tersebut biasanya ditambahkan dalam medium kultur dalam bentuk ekstrak ragi atau darah, termasuk vitamin B-kompleks, asam amino, purin, dan pirimidin. Vitamin B-kompleks berperan sebagai katalitik dalam sel juga komponen koenzim atau sebagai grup prostetik enzim. Organisme yang mampu mensintesis faktor pertumbuhan biasanya tidak memerlukan senyawa tersebut dari luar.

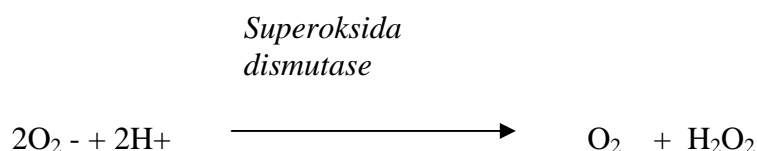
Ion anorganik. Sejumlah kecil ion anorganik dibutuhkan oleh semua bakteri. Selain nitrogen, sulfur dan fosfor yang terdapat sebagai unsur dalam senyawa biologik, kalium, magnesium dan kalsium pada bakteri fungsinya berhubungan dengan polimer anionik tertentu. Magnesium berfungsi menstabilkan ribosom, membran sel, asam nukleat, dan dibutuhkan untuk aktivitas sejumlah enzim. Kalium juga dibutuhkan untuk aktivitas sejumlah enzim, dan konsentrasi kalium dalam sel bakteri Gram-positif dipengaruhi oleh kandungan asam teikoat pada dinding sel. Sebagian besar bakteri membutuhkan besi, magnesium, seng, kupri, dan kobalt, dan untuk bakteri lain kebutuhan molibdenum dan selenium dianggap esensial. Kebutuhan unsur tersebut untuk bakteri lain lebih sulit untuk diperkirakan, karena kadang-kadang diperlukan atau kehadirannya dianggap sebagai unsur kontaminan dalam medium.

Unsur dalam jumlah yang sedikit (trace element) berperan penting dalam inetraksi inang-parasit. Pada inang hewan, kekuatan protein pengikat-besi dalam cairan tubuh berfungsi untuk menahan besi terhadap serangan mikroorganisme yang masuk. Keberhasilan mikroorganisme memasuki inang, akan dapat meningkatkan kemampuannya untuk mengambil besi, dan dengan giat mengekstrak besi dari berbagai lingkungannya. Sejumlah senyawa besi (siderophore) sudah dikenal pada beberapa spesies bakteri. Kehadirannya sangat penting untuk pengambilan besi, dan signifikan secara evolusiner untuk keberhasilan kompetisi dengan inangnya dalam hal nutrisi esensial yang jumlahnya terbatas.

Oksigen. Kebutuhan oksigen pada bakteri tertentu mencerminkan mekanisme yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan energinya. Berdasarkan kebutuhan oksigen tersebut, bakteri dapat dipisahkan menjadi lima kelompok:

1. Anaerob obligat yang tumbuh hanya dalam keadaan tekanan oksigen yang sangat rendah dan oksigen bersifat toksik.
2. Anaerob aerotoleran yang tidak terbunuh dengan paparan oksigen.
3. Anaerob fakultatif, dapat tumbuh dalam keadaan aerob dan anaerob.
4. Aerob obligat, membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya.
5. Bakteri mikroaerofilik yang tumbuh baik pada tekanan oksigen rendah, tekanan oksigen tinggi dapat menghambat pertumbuhan.

Pada anaerob toleran dan obligat, metabolismenya bersifat fermentatif kuat. Pada anaerob fakultatif, cara metabolisme respirasi dilakukan jika tersedia oksigen, tetapi tidak terjadi fermentasi. Pada saat bakteri tumbuh dalam keadaan terdapat udara, terjadi sejumlah reaksi enzimatik dan mengakibatkan produksi hidrogen peroksida dan radikal superoksida. Pada bakteri aerob, aerotoleran, dan anaerob fakultatif, enzim dismutase superoksida mencegah akumulasi ion superoksida, tetapi pada anaerob obligat enzim tersebut tidak terdapat:



Pada bakteri anaerob fakultatif dan aerobik, hidrogen peroksida yang

dibentuk dalam reaksi dismutase secara cepat dirusak oleh katalase. Meskipun bakteri aerotoleran, seperti bakteri asam laktat tidak memiliki katalase, peroksidase yang dimilikinya dapat merusak H_2O_2 , menyebabkan bakteri dapat tumbuh pada keadaan tersedianya oksigen.

Target yang mungkin dirusak oleh H_2O_2 dan O_2 – termasuk protein membran luar spesifik, komponen aktif redoks pada membran sitoplasma, dan enzim pada daerah periplasma. Pada *Treponema pallidum*, sensitivitas oksigen menjadi relatif terhadap kerusakan DNA yang disebabkan H_2O_2 .

Karbon dioksida. Bakteri pengguna CO_2 sebagai sumber karbon seluler utama, ialah bakteri kemolitotrof dan fotolitotrof. Selain itu, kemoorganotrof juga membutuhkan suplai CO_2 yang memadai untuk fiksasi CO_2 heterotrofik dan untuk sintesis asam lemak. Karbon dioksida secara normal dihasilkan selama katabolisme senyawa organik, oleh karena itu tidak dianggap sebagai faktor pembatas. Beberapa bakteri, seperti *Neisseria* dan *Brucella*, memiliki satu atau banyak enzim yang berafinitas rendah terhadap CO_2 dan membutuhkan CO_2 pada konsentrasi yang lebih tinggi (10%) dibanding CO_2 yang terdapat di atmosfer (0,03%). Keadaan ini harus dipertimbangkan untuk kepentingan isolasi dan biakan bakteri tersebut.

2. Faktor Fisik

Potensial Reduksi-Oksidasi. Potensial Reduksi-Oksidasi (Eh) pada medium kultur merupakan faktor kritis dalam penentu pertumbuhan suatu inokulum yang ada pada saat dipindahkan ke media yang baru. Pada sebagian besar media yang kontak dengan udara,

Eh sekitar + 0,2 sampai + 0,4 Volt pada pH 7. Anaerob obligat tidak dapat tumbuh pada keadaan demikian, Eh yang dibutuhkan paling sedikit – 0,2 Volt. Keadaan kultur anaerobik dapat dibuat dengan mengeluarkan oksigen, menggunakan sistem kultur anaerobik atau dengan penambahan senyawa yang mengandung-sulfidril, seperti kalsium tioglikolat (merkaptasetat). Selama pertumbuhannya bakteri aerobik dan anaerobik mengalami penurunan Eh lingkungan, hal ini dapat diamati dan penting dalam infeksi bernanah yang disebabkan oleh campuran bakteri aerobik dan anaerobik yang mampu menyebabkan infeksi yang dimulai oleh bakteri aerobik.

Temperatur. Setiap bakteri memiliki temperatur optimal dimana mereka

dapat tumbuh sangat cepat dan memiliki rentang temperatur dimana mereka dapat tumbuh. Pembelahan sel sangat sensitif terhadap efek kerusakan yang disebabkan temperatur; betuk yang besar dan aneh dapat diamati pada pertumbuhan kultur pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur yang mendukung tingkat pertumbuhan yang sangat cepat.

Berdasarkan rentang temperatur dimana dapat terjadi pertumbuhan, bakteri dikelompokkan menjadi tiga:

1. Psikrofilik, -5°C sampai 30°C , optimum pada $10-20^{\circ}\text{C}$;
2. Mesofilik, $10-45^{\circ}\text{C}$, optimum pada $20-40^{\circ}\text{C}$;
3. Termofilik, $25-80^{\circ}\text{C}$, optimum pada $50-60^{\circ}\text{C}$.

Temperatur optimal biasanya mencerminkan lingkungan normal mikroorganisme. Jadi, bakteri patogen pada manusia biasanya tumbuh baik pada temperatur 37°C .

Konsentrasi Ion Hidrogen. pH medium biakan juga mempengaruhi kecepatan pertumbuhan, untuk pertumbuhan bakteri juga terdapat rentang pH dan pH optimal. Pada bakteri patogen pH optimalnya $7,2 - 7,6$. Meskipun medium pada awalnya dikondisikan dengan pH yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tetapi, secara bertahap besarnya pertumbuhan akan dibatasi oleh produk metabolit yang dihasilkan mikroorganisme tersebut.

Bakteri memiliki mekanisme yang sangat efektif untuk memelihara kontrol regulasi pH sitoplasmanya (pHi). Pada sejumlah bakteri, pH berbeda dengan 0,1 unit per perubahan pH pada pH eksternal. Hal ini disebabkan kontrol aktivitas sistem transpor ion yang mempermudah masuknya proton. Berbagai macam sistem yang mencerminkan luas rentang nilai pHi diperlihatkan oleh berbagai bakteri. Asidofil memiliki nilai rentang pHi $6,5 - 7,0$; neutrofil memiliki nilai rentang pHi $7,5 - 8,0$, dan alkalofil memiliki nilai rentang pHi $8,4 - 9,0$. Mikroorganisme fermentatif memperlihatkan rentang nilai pHi yang lebih tinggi dibandingkan dengan mikroorganisme yang menggunakan jalur respirasi. Pada mikroorganisme fermentatif, produksi produk fermentatif yang bersifat asam dan akumulasinya mengakibatkan gangguan keseimbangan pH dan pembatasan pertumbuhan. Sejumlah mikroorganisme meningkatkan mekanisme kompensasi untuk mencegah efek toksik dari akumulasi produk yang bersifat asam dan berkonsentrasi tinggi tersebut. Contoh

mekanisme tersebut, dengan menginduksi jalur metabolik baru untuk tujuan produksi produk netral butanol dari butirat oleh *Clostridium acetobutylicum* dan butanediol dari asetat oleh *Klebsiella aerogenes*.

Kondisi Osmotik. Konsentrasi larutan yang aktif secara osmotik di dalam sel bakteri, umumnya lebih tinggi dari konsentrasi di luar sel. Sebagian besar bakteri, kecuali pada *Mycoplasma* dan bakteri yang mengalami kerusakan dinding selnya, tidak toleran terhadap perubahan osmotik dan akan mengembangkan sistem transpor kompleks dan alat pengatur sensor-osmotik untuk memelihara keadaan osmotik konstat dalam sel.

Membrane-derived Oligosaccharide (MDO), suatu unsur sel yang terdapat pada *E. coli*. Pada *E. coli* dan bakteri Gram-negatif lain, terdapat dua bagian cairan yang berbeda, sitoplasma yang terdapat pada membran dalam, dan daerah periplasma yang terdapat di antara membran luar dan membran dalam. Pada saat bakteri ini tumbuh pada medium dengan osmolaritas rendah maka membran sitoplasma yang sedikit kaku akan mengembang paling tidak dapat mencegah perubahan osmolaritas daerah periplasma, sama dengan pada sitoplasma. Pada sel yang tumbuh dalam medium dengan osmolaritas rendah, MDO merupakan sumber utama anion terfiksasi pada daerah periplasma dan berperan memelihara tekanan osmotik tinggi dan potensial membran Donnan pada bagian periplasma. Struktur oligosakarida ini sangat layak untuk peran pengaturan tersebut. Oligosakarida ini memiliki BM antara 2200-2600 dan bersifat impermeabel terhadap membran luar, suatu komponen penting untuk fungsi spesifiknya. Oligosakarida ini terdiri dari 8-10 unit glukosa. Pertumbuhan sel pada medium dengan osmolaritas rendah mensintesis MDO pada kecepatan maksimum, kecepatan sintesis nampaknya diatur secara genetik untuk merespon perubahan osmolaritas medium.

E. SIKLUS SEL BAKTERI

Sel yang tumbuh dipersiapkan untuk membelah. Laju pertumbuhan, dan frekuensi pembelahan bergantung pada spesies dan kondisi lingkungan. Dalam periode yang pendek, seringkali selama 20 menit, suatu bakteri dapat membentuk duplikatnya yang lengkap, yang kemudian disebut kemampuan berduplikasi. Pada biasanya pertumbuhan eksponensial, bakteri membelah setelah menggandakan

volume sel dengan menggandakan panjang sel.

Bakteri tidak menunjukkan siklus sel seperti pada organisme eukariot. Sedangkan sintesis DNA sel eukariot dibatasi fase S siklus sel, pada bakteri yang tumbuh secara eksponensial sintesis DNA terjadi sepanjang siklus pembelahan saja. Pada bakteri tahap duplikasi tidak berurutan satu dengan lainnya tetapi overlap (saling tumpang tindih), banyaknya overlapping bergantung pada medium biakan.

1. Sporulasi

Komponen unik bakteri tertentu (contoh *Bacillus* dan *Clostridium*) adalah kemampuannya untuk membentuk endospora. Pada beberapa titik dalam siklus sel vegetatif bakteri pembentuk-spora, pertumbuhan diistirahatkan dan sel berubah secara progresif mengakibatkan pembentukan endospora (Gambar 4-2). Spora merupakan struktur dorman yang mampu bertahan dalam periode yang lama dan dibantu dengan kapasitas untuk membentuk kembali tahap vegetatif pertumbuhan di bawah kondisi lingkungan yang sesuai. Proses yang dilibatkan dalam sporulasi, juga pemecahan spora dorman dan tahap munculnya sel vegetatif, menyajikan suatu contoh primitif dari diferensiasi uniseluler.

Komponen Endospora

Pembentukan endospora terjadi selama fase stationer pertumbuhan setelah terjadi penurunan nutrisi tertentu dalam medium biakan atau lingkungan. Spora tunggal dihasilkan dalam satu sel vegetatif dan berbeda dari sel induknya dalam hal morfologi dan komposisi, peningkatan resistensi terhadap lingkungan yang merugikan, dan ketiadaan kemampuan mendeteksi aktivitas metabolik. Resistensi spora terhadap panas menjadi perhatian utama dalam bidang kesehatan, tetapi peningkatan resistensi spora terhadap pengeringan, pembekuan, radiasi dan pengrusakan oleh senyawa kimia, merupakan faktor yang sangat penting dalam lingkungan alamnya. Nilai selektif primer spora terletak pada panjang usianya dalam tanah berpasangan dengan kemampuan untuk bergerminasi di bawah kondisi lingkungan yang sesuai.

Dasar Resistensi Spora. Pada sel yang bersporulasi, resistensi terhadap berbagai bahan kimia dan faktor fisik nampak pada setiap tahap yang berbeda, bersamaan dengan perubahan komposisi fisikokimia sel. Resistensi terhadap radiasi,

kekeringan, dan bahan kimia toksik terjadi setelah sel terlihat berbias dan bergantung paling tidak pada bagian komponen kaya-sistein, yaitu protein pelapis spora mirip-keratin. Resistensi terhadap panas ditandai dengan kandungan air yang sangat rendah pada protoplas yang menyebabkan protein dan asam nukleat lebih resisten terhadap denaturasi. Penurunan kandungan air terjadi pada tahap akhir sporulasi, pada waktu pembentukan korteks dan pada saat spora pertamakali terlihat sebagai obyek yang membias. Komponen utama korteks adalah peptidoglikan yang secara radikal berbeda dari sel vegetatifnya. Peptidoglikan dinding sel dimana terdapat banyak hubungan-lintas tetrapeptida, pada polimer korteks keadaan terjadi sebaliknya, hubungan-lintas tersebut nampak menurun. Penurunan derajat hubungan-lintas dianggap berperan penting dalam kontraksi pepadatan dan dehidrasi korteks selama sporulasi. Korteks sendiri mampu dan berperan memelihara status resisten pada protoplas.

Resistensi terhadap panas juga berhubungan dengan konsentrasi kalsium dalam spora dan selama tahap sintesis asam dipikolinat sebagai komponen spora-spesifik. Asam dipikolinat merupakan bahan chelator (pengambil) yang terdapat sebagai garam kalsium dalam protoplas spora dan jumlahnya sebanyak 10% dari berat kering spora matur. Dipikolinat menyisip dalam struktur heliks DNA, menggantikan air intramolekuler juga berikatan dengan jenis RNA yang berbeda.

2. Biokimia Sporulasi

Pada beberapa periode perkembangan sel, secara irreversibel metabolisme disalurkan pada arah sporulasi. Bukan satu macam hal yang bertanggung jawab dalam proses sporulasi, sebagai satu kesatuan tetapi setiap makromolekul spesifik bertanggung jawab pada setiap poin secara terpisah. Serangkaian perubahan struktur dan sitologik diperlukan menyertai perubahan fisiologik tersebut (Gambar 3-7). Polimer cadangan tertentu, seperti poli(-hidroksibutirat, berakumulasi dan dimanfaatkan selama sporulasi. Terjadi pengurangan makromolekul secara besar-besaran, dan secara drastis terjadi tahap perubahan beberapa enzim. Disintesis struktur spora, dan struktur yang ada sebelumnya didegradasi. Kelompok molekul kecil ditemukan dalam spora yang sifatnya berbeda dari sel vegetatif. Selain asam dipikolinat, terdapat akumulasi ion divalen, dan asam L-glutamat tahap tinggi.

Komponen predominan mereduksi kumpulan fosfat terlarut-asam yaitu asam 3-fosfoglisarat sebagai pengganti ATP, yang merupakan komponen sel vegetatif.

Selama sporulasi dapat diamati beberapa perbedaan pola aktivitas enzim. Diantaranya yang berhubungan dengan mekanisme pembentukan spora, dan yang lain merupakan komponen spesifik pada spora itu sendiri. Katalase tahan-panas ditemukan dalam spora yang secara imunologik berbeda dari enzim sel vegetatif, dan enzim tertentu seperti glukosa dehidrogenase, suatu ribosilase, dan enzim litik spora yang hanya terdapat dalam spora. Salah satu tahap perubahan yang terjadi secara tiba-tiba ialah produksi dan sekresi antibiotik peptida dan berbagai eksoenzim khususnya protease. Protease berperan penting dalam pergantian protein intraseluler, tetapi hubungan antara sporulasi dengan produksi antibiotik belum diketahui. Selama sporulasi juga disintesis protein spora terlarut-asam berukuran kecil (small acid-soluble spore proteins/SASP), yang disimpan dalam spora matang, protein ini secara cepat didegradasi menjadi asam amino bebas selama germinasi, dan digunakan kembali untuk sintesis protein. Dua dari protein tersebut juga memperlihatkan peran kunci pada resistensi spora dorman terhadap panas dan radiasi UltraViolet.

Permulaan Sporulasi

Sporulasi merupakan respon terhadap penurunan kadar nutrisi, khususnya ketersediaan sumber karbon dan nitrogen. Regulasi pembentukan spora bersifat negatif: sel membuat represor dari beberapa senyawa yang terkandung dalam medium untuk mencegah dimulainya sporulasi. Ketika senyawa tersebut berkurang, penghambat dilepaskan dan terjadi sporulasi. Kelangsungan metabolisme karbon dan nitrogen diperlukan untuk hambatan sporulasi. Jika proses tersebut menurun, hambatan akan dibebaskan dan sporulasi dimulai.

Faktor spesifik yang mengatur inisiasi sporulasi ialah GTP (guanosin trifosfat). Pada *B. subtilis* penurunan kumpulan GTP pada sel yang sedang tumbuh, cukup untuk memulai sporulasi. Seluruh kondisi penurunan nutrisi yang diketahui dapat memulai sporulasi dan menyebabkan penurunan GTP pada waktu sporulasi dimulai. Dua tipe pengurangan nutrisi yang mampu menurunkan GTP di bawah kondisi nutrisi terbatas : 1). Penurunan prekursor purin, P-ribosil-PP, disebabkan terbatasnya suplai karbon, dan 2). Respon kuat terhadap pengurangan asam amino,

yang dihubungkan dengan peningkatan konsentrasi nukleotida guanin terfosforilasi tinggi, ppGpp dan pppGpp.

3. Germinasi dan Pertumbuhan

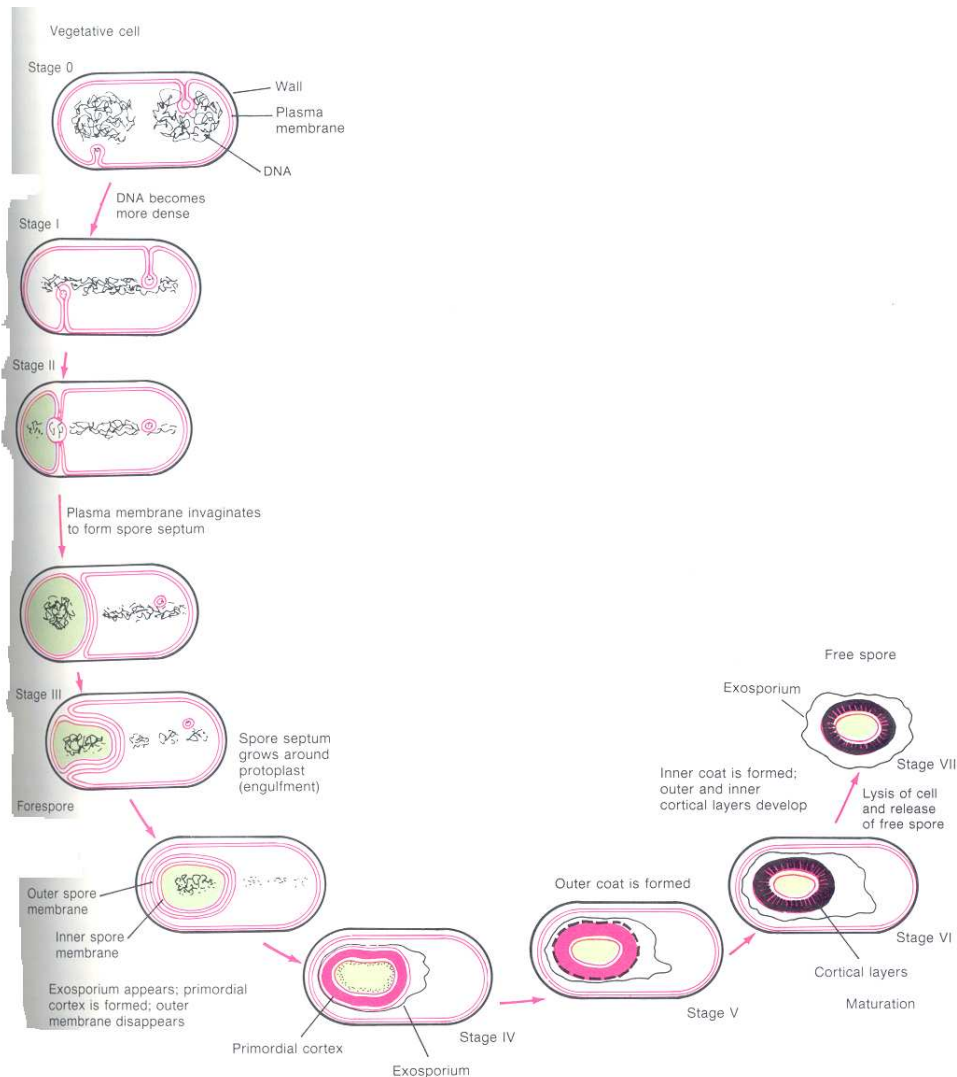
Perubahan fisiologis dan struktural secara simultan terjadi selama transformasi spora dorman menjadi sel vegetatif. Proses germinasi spora terdiri dari tiga tahap fase : 1). Tahap aktivasi dimana kondisi lingkungan layak menyebabkan spora bergerminasi,

2). Tahap germinasi, selama terjadi hilangnya komponen khusus spora dorman, dan

3). Tahap pertumbuhan dimana spora dikonversi menjadi sel vegetatif baru.

Aktivasi merupakan proses reversibel yang penting dalam germinasi spora. Spora tidak bergerminasi atau bergerminasi sangat lambat paling sedikit diaktifkan oleh panas atau pemberian berbagai senyawa kimia. Aktivasi dapat melibatkan proses denaturasi makromolekul spesifik secara reversibel. Germinasi merupakan proses irreversibel pada spora yang diaktifkan dan dipicu oleh paparan faktor nutrisi dan non-nutrisi secara simultan. Germinasi nutrisi utama yaitu L-Alanin, selain itu beberapa asam amino, nukleosida dan glukosa. Germinasi merupakan proses berakhirnya tahap dorman. Selama tahap awal germinasi refraktilitas hilang dan terjadi pembengkakan korteks dan muncul fibril nukleus. Proses tersebut diikuti oleh hilangnya resistensi terhadap kerusakan akibat faktor fisik dan bahan kimia, terjadi peningkatan sulfidril spora, pelepasan komponen spora, dan peningkatan aktivitas metabolik. Germinasi spora tidak dihambat oleh antibiotik yang merusak sintesis protein dan asam nukleat, hal ini ditandai dengan adanya enzim untuk germinasi dalam spora.

Selama pertumbuhan terjadi sintesis protein dan komponen struktur khusus pada sel vegetatif. Selama tahap ini membran inti spora berkembang menjadi dinding sel vegetatif. Pertumbuhan merupakan periode aktivitas biosintetik aktif dan secara nyata dihambat oleh gangguan suplai energi dan antibiotik yang merusak sintesis dinding sel, protein dan asam nukleat.



Gambar 4.2 Tahap perubahan morfologi dan biokimia yang berhubungan dengan sporulasi pada *Bacillus subtilis*. Proses tersebut dihitung dari akhir pertumbuhan eksponensial pada t_0 ketika setiap sel vegetatif mengandung dua kromosom, dan pada periode beberapa saat sesudahnya. (Sumber : Brock and Madigan, 1991)

F. PENGENDALIAN PERTUMBUHAN BAKTERI

Pertumbuhan bakteri dan mikroorganisme lainnya dapat dipelajari dengan mengendalikan pertumbuhannya. Tujuan pengendalian adalah untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan mencegah kontaminasi bakteri yang tidak dikehendaki kehadirannya dalam suatu media. Cara mencegah pertumbuhan mikroorganisme tersebut secara umum terdapat dua prinsip, yaitu: 1) dengan membunuh mikroorganisme, 2) menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Pengendalian mikroorganisme, khususnya bakteri dapat dilakukan baik secara kimia maupun fisik, yang keduanya bertujuan menghambat atau membunuh mikroorganisme yang tidak dikehendaki.

1. Pengendalian Mikroorganisme Secara Kimia

Banyak zat-zat kimia yang dewasa ini digunakan untuk membunuh atau mengurangi jumlah mikroorganisme, terutama mikroorganisme patogen. Pengendalian secara kimia umumnya lebih efektif digunakan pada sel vegetatif bakteri, virus dan fungi, tetapi kurang efektif untuk menghancurkan bakteri dalam bentuk endospora. Oleh karena tidak ada bahan kimia yang ideal atau dapat digunakan untuk segala macam keperluan, maka diperlukan beberapa hal dalam memilih dan menggunakan senyawa kimia untuk tujuan tertentu, yaitu :

- a. Aktivitas antimikroba, yaitu memiliki kemampuan untuk mematikan mikroorganisme, dalam konsentrasi yang rendah pada spektrum yang luas, artinya dapat membunuh berbagai macam mikroorganisme.
- b. Kelarutan, artinya senyawa ini bisa larut dalam air atau pelarut lain, sampai pada taraf yang diperlukan secara efektif.
- c. Stabilitas, artinya memiliki stabilitas yang tinggi bila dibiarkan dalam waktu yang relatif lama dan tidak boleh kehilangan sifat antimikrobanya.
- d. Tidak bersifat toksik bagi manusia maupun hewan lain, artinya senyawa ini bersifat letal bagi mikroorganisme dan tidak berbahaya bagi manusia maupun hewan lain.
- e. Homogenitas, komposisinya harus selalu sama, sehingga bahan aktifnya terdapat pada setiap aplikasi.
- f. Ketersediaan dan biaya, senyawa itu harus tersedia dalam jumlah besar dengan harga yang pantas.
- g. Sifat bahan harus serasi, yaitu zat kimia yang digunakan untuk disinfeksi alat-alat yang terkontaminasi tidak baik digunakan untuk kulit karena dapat merusak sel kulit.
- h. Tipe mikroorganisme, artinya tidak semua mikroorganisme rentan terhadap mikrobiostatik atau mikrobiosida, oleh karena itu harus dipilih tipe mikroorganisme yang akan dibasmi.

- i. Keadaan lingkungan, artinya bahan yang digunakan harus aman bagi lingkungan sekitar, dan tidak memiliki efek samping.

1). Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kemampuan Kerja Antimikroba

Berbeda atau kebalikan dari bahan kemoterapeutik yang memperlihatkan suatu derajat selektivitas tinggi untuk spesies bakteri tertentu., desinfektan bersifat sangat toksik untuk semua tipe sel. Keefektifan bahan tertentu ditentukan oleh kondisi yang sangat luas, dimana digunakannya bahan tersebut.

Konsentrasi Bahan. Beberapa bahan bersifat mematikan untuk bakteri, ketika digunakan hanya pada konsentrasi yang sangat tinggi. Bahan lain, pada konsentrasi sangat rendah dapat menstimulasi, memperlambat, bahkan membunuh organisme. Konsentrasi dibutuhkan untuk memberi pengaruh, juga rentang konsentrasi berbeda berdasarkan desinfektan, organisme, dan metode pengujian. Suatu hubungan yang sangat erat terdapat diantara konsentrasi, obat yang digunakan dan waktu yang dibutuhkan untuk membunuh suatu bagian populasi. Hubungan ini dapat digambarkan sebagai berikut : $C^n t = K$

Dimana C adalah konsentrasi obat, t adalah waktu yang dibutuhkan untuk membunuh suatu bagian sel, dan n dan K merupakan konstanta. Pada senyawa fenolik, perubahan dalam konsentrasi disinfektan dapat menyatakan pengaruh pada kecepatan desinfektan; sebagai contoh , pengurangan konsentrasi sekitar satu setengah-kali dapat meningkatkan kebutuhan waktu untuk sterilisasi sekitar 64-kali lipat. Pada sebagian besar disinfektan, pengaruh konsentrasi tersebut kurang dramatik.

Waktu. Pada saat bakteri dipapar oleh konsentrasi bahan bakterisida spesifik, tidak semua bakteri dapat dibunuh pada waktu yang sama; jarang terjadi pengurangan jumlah sel hidup secara keseluruhan. Disinfeksi, biasanya suatu proses pembunuhan bakteri dengan alasan panjangnya waktu yang digunakan.

pH. Konsentrasi ion hidrogen mempengaruhi peranan bakterisida, dengan cara mempengaruhi organisme dan bahan kimia dalam bakterisida tersebut. Pada saat dicampurkan dalam suatu medium pertumbuhan dengan pH 7, bakteri akan bermuatan negatif. Suatu peningkatan pH akan meningkatkan muatan dan dapat merubah konsentrasi efektif bahan kimia pada permukaan sel. pH juga menentukan

derajat ionisasi senyawa kimia. Umumnya, bentuk nonanion dari suatu bahan yang mampu berdisosiasi (cair) dapat melalui membran sel lebih cepat dibandingkan dengan bentuk ionik inaktif.

Temperatur. Pembunuhan bakteri oleh bahan kimia akan meningkat dengan suatu peningkatan temperatur. Pada temperatur rendah, untuk setiap peningkatan 10°C, terjadi dua-kali kecepatan kematian. Pada beberapa bahan, seperti fenol, kecepatan ditingkatkan dari lima sampai delapan kali, karena reaksi dianggap lebih kompleks dan dipengaruhi faktor lain.

Sifat Organisme. Kemampuan suatu bahan tertentu bergantung pada komponen organisme yang diuji dengan bahan tersebut. Yang terpenting adalah spesies mikroorganisme, fase pertumbuhan kultur, adanya struktur khusus, seperti spora atau kapsul, sejarah kultur sebelumnya, dan jumlah organisme dalam sistem uji.

Usia Mikroorganisme. Tingkat kerentanan mikroorganisme sangat ditentukan oleh umur biakan mikroorganisme. Pada prinsipnya kerentanan mikroorganisme yang tinggi yaitu pada fase pertumbuhan eksponensial. Sedangkan pada fase stasioner dianggap kurang efektif karena metabolisme sel mikroba tidak terlalu aktif.

Bahan ekstra. Terdapatnya bahan organik, seperti serum, darah, atau nanah, mempengaruhi aktivitas beberapa disinfektan dan membuat senyawa yang sangat aktif menjadi tidak berdaya atau pengaruhnya menjadi lambat. Bahan asing tersebut merubah aktivitas disinfektan melalui beberapa cara: absorpsi permukaan disinfektan tersebut oleh koloid protein, pembentukan senyawa kimia dengan aktivitas lambat atau tidak berdaya, pengikatan disinfektan oleh grup aktif protein asing tersebut. Disinfektan yang mengalami hambatan aktivitasnya secara besar-besaran, dikurangi oleh bahan organik dengan kandungan protein tinggi seperti pewarna anilin, merkuri, dan deterjen kationik. Merkuri tersebut dihambat oleh senyawa yang mengandung grup sulfidril, dan senyawa amonium kuartener dihambat oleh sabun dan lemak.

2) Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme obat dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme bervariasi dan kompleks. Tahap-tahap atau perubahan secara simultan sering terjadi dan membuatnya sulit untuk merubah efek primer dari efek sekundernya. Umumnya semua efek bahan kimia yang dapat diamati pada bakteri,

menyebabkan perubahan pada komponen makromolekulnya. Beberapa perubahan ini merusak membran sel, membuat inaktif protein secara irreversibel, dan menyebabkan kerusakan asam nukleat.

a. Bahan Yang Merusak Membran sel.

Keutuhan struktur membran bergantung pada protein dan lipid yang menyusunnya. Larutan organik dan deterjen merusak struktur tersebut, menyebabkan gangguan fungsi pada membran yang normal. Pengaruhnya yang lain adalah melepaskan metabolit kecil dari sel dan mengganggu transpor aktif dan metabolisme energi.

Disinfektan Aktif-permukaan

Senyawa yang merubah hubungan timbal-balik energi pada ruang-antara (*interfaces*), mengurangi permukaan atau tekanan ruang-antara, oleh karena itu senyawa tersebut dinamakan bahan aktif-permukaan. Bahan aktif-permukaan merupakan senyawa yang memiliki grup hidrofilik dan hidrofobik. Ruang-antara antara membran yang mengandung-lipid pada sel bakteri dan medium berair sekelilingnya, tersedia sebagai target yang rentan terhadap tipe bahan seperti ini. Bagian molekul hidrofobik, bersifat larut dalam-lemak, hidrokarbon ratai-panjang, sedangkan bagian hidrofilik yang dapat terionisasi atau suatu nonionik tetapi merupakan struktur yang sangat polar. Yang termasuk bahan aktif-permukaan ialah kationik, anionik, nonionik, dan senyawa amfoterik, seperti yang tercantum dalam tabel 4-3. Dari tabel tersebut, senyawa anionik dan kationik banyak digunakan sebagai bahan antibakteri.

Tabel 4-3 Bahan Aktif-permukaan

Nama Pabrik	Tipe Senyawa	Struktur
Zephiran	Kationik	Alkildimetilbenzil amonium klorida
Triton K-12	Kationik	Setildimetilbenzil amonium klorida
Ceepryn chlorida	Kationik	Setilpiridinium klorida
Duponol LS	Anionik	Natrium oleil sulfat
Triton W-30	Anionik	Garam natrium dari alkilfenoksietil sulfonat
Carbowax 1500	Nonionik	Ester asam oleat dari glikol polietilen

dioleate Tween 80	Nonionik	terpolimerisasi Sorbitan monooleat polioksialkilen derivatif.
----------------------	----------	--

b. Bahan Kationik.

Senyawa Amonium kuarternier. Yang terpenting dalam bahan aktif-permukaan bakterisida ialah senyawa kationik yang memiliki residu hidrofobik diseimbangkan dengan muatan positif grup hidrofilik, seperti inti amonium kuarternier. Ketika bakteri dipapar oleh bahan tipe ini, grup yang beruatan positif akan berhubungan dengan grup fosfat fosfolipid membran, sedangkan bagian nonpolar menembus ke dalam interior hidrofobik membran. Menghasilkan penyimpangan yang menyebabkan kehilangan semipermeabilitas membran dan kebocoran senyawa yang mengandung-fosfor dan nitrogen. Bahan kationik itu sendiri dapat memasuki sel dan mendenaturasi protein. Aktivitas terbaik senyawa amonium kuarternier ini pada pH alkalin. Meskipun senyawa ini bersifat bakterisida untuk organisme secara luas, spesies gram-positif lebih rentan. Aktivitas antibakteri dikurangi dengan adanya bahan organik.

c. Bahan Anionik.

Diantara deterjen anionik terdapat sabun dan asam lemak yang terpisah untuk menghasilkan ion muatan negatif. Bahan ini lebih aktif pada pH asam, aktif menyerang bakteri Gram-positif tetapi relatif tidak efektif untuk spesies Gram-negatif karena lipopolisakarida membran luarnya. Melalui penggabungan suatu bahan anionik dengan asam, surfaktan asam-anionik sangat efektif sebagai pembersih yang bersifat sinergistik dan memainkan peran bakterisida secara cepat (dalam 30 detik).

Deterjen anionik menyebabkan kerusakan besar pada lipoprotein membran sel. Kerusakan garam empedu secara primer, selama ini digunakan oleh ahli mikrobiologi untuk menghancurkan *Pneumococcus*, yang memecah membran sel, menyebabkan enzim autolitik berperan pada substrat, yang dipotong dari sel utuh. Ketika digunakan bersama, deterjen anionik dan kationik, saling menetralsir satu sama lain.

d. Senyawa Fenolik.

Pada konsentrasi rendah, senyawa ini bersifat bakterisida secara cepat menyebabkan kebocoran kandungan sel dan secara irreversibel meng-inaktifkan oksidase dan hidrogenase-terikat membran. Senyawa fenolik induk (asam karbolat) digunakan secara terbatas terutama untuk menguji bahan bakterisida baru.

Kresol merupakan alkil fenol sederhana. Orto-, meta-, dan parakresol dianggap lebih aktif daripada fenol dan biasanya digunakan sebagai suatu campuran (trikresol). Kresol, diperoleh secara industri melalui destilasi tar batubara, diemulsifikasi dengan sabun hijau dan padat dengan nama pabrik Lisol dan Creolin.

Fenol dan kresol berbau khas dan bersifat korosis terhadap jaringan. Walaupun demikian mereka tahan terhadap pemanasan dan pengeringan serta tidak terpengaruh oleh bahan-bahan organik, tetapi kurang efektif terhadap spora. Penambahan halogen seperti klorin akan meningkatkan aktivitas fenol. Fenol dan kresol juga bersifat menghilangkan sakit (*pain killing*). Oleh karena sangat toksik, keduanya hanya dapat digunakan secara eksternal (bagian luar tubuh).

e. Senyawa Difenil

Senyawa difenil terhalogenasi memperlihatkan komponen antibakteri yang unik. Dari senyawa ini, yang terpenting adalah heksaklorofen merupakan derivat fenol. Heksaklorofen sangat efektif menyerang bakteri Gram-positif, khususnya *Streptococcus* dan *Staphylococcus*. Heksaklorofen, merupakan bakterisida jika digunakan pada konsentrasi yang cukup tinggi, tidak seperti beberapa disinfektan, tetap memiliki kemampuan antimikroba ketika dicampurkan dengan sabun atau ditambahkan kepada berbagai bahan kosmetik. Digunakan pada berbagai produk, seperti sabun germisida dan antikerangat. Penyerapannya melalui kulit dapat menyebabkan neurotoksisitas, khususnya pada bayi, sekarang penggunaannya secara luas dihentikan.

f. Alkohol

Alkohol memberikan pengertian mengenai interaksi pelarut organik dengan membran lipid. Alkohol memecah struktur lipid melalui penembusan ke dalam daerah hidrokarbon. Sebagai tambahan, pengaruhnya pada membran, alkohol dan

pelarut organik lain dapat mendenaturasi protein seluler. Oleh karena itu membran sel akan rusak dan enzim-enzim mengalami inaktivasi.

Ada tiga jenis alkohol yang digunakan, yaitu: metanol [CH_3OH], etanol [$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$] dan isopropanol [$(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$]. Menurut ketentuan, semakin tinggi berat molekulnya, semakin meningkat pula daya bakterisidanya. Alkohol alifatik, khususnya etanol sudah digunakan secara luas sebagai disinfektan kulit karena kemampuan bakterisida dan kemampuannya menghilangkan lemak dari permukaan kulit. Perannya sebagai disinfektan, secara luas dihambat karena ketidakmampuan etanol untuk membunuh spora pada suhu normal; karena alasan tersebut etanol selayaknya tidak digunakan untuk sterilisasi alat-alat. Etanol, aktif menyerang bakteri Gram-positif, Gram-negatif, dan “acid-fast”, dan lebih efektif pada konsentrasi 50%-70%.

Aktivitas bakterisida isopropil alkohol lebih besar dibandingkan dengan etanol, dan kurang mudah menguap. Karena alasan tersebut, direkomendasikan sebagai pengganti etanol untuk sterilisasi termometer. Narkosis dapat disebabkan penyerapan uap isopropil alkohol melalui paru-paru selama menggunakan busa alkohol.

Konsentraasi alkohol yang dipergunakan dalam praktek adalah alkohol 70-80% dalam air. Konsentrasi di atas 90% atau di bawah 50% biasanya kurang efektif kecuali untuk isopropil alkohol yang masih tetap efektif sampai konsentrasi 99%. Waktu 10 menit sudah cukup untuk membunuh sel vegetatif, tetapi tidak untuk spora.

Sendiri atau dalam bentuk kombinasi, alkohol sering dipakai sebagai disinfektan kulit. Suatu hapusan dengan alkohol secara cepat, tidak cukup mensterilkan, tetapi hanya mengurangi jumlah populasi dan dengan demikian juga mengurangi timbulnya infeksi. Telah menjadi kebiasaan kita dalam praktek untuk mencelupkan alat-alat seperti gunting, pisau, pinset dan sebagainya ke dalam alkohol dan kemudian membakarnya. Keefektifan cara ini masih dipertanyakan dan hendaknya jangan dipakai untuk mengganti cara-cara sterilisasi yang lebih baik.

g. Bahan Yang Merubah Grup Fungsional Pada Protein Dan Asam Nukleat

Tempat katalitik suatu enzim mengandung grup fungsional spesifik yang mengikat substrat dan memulai peristiwa katalitik. Penghambatan aktivitas enzim terjadi, jika satu atau lebih grup fungsional ini dirubah atau dirusak. Grup fungsional penting pada membran, dinding sel, dan asam nukleat juga rentan terhadap inaktivasi.

Senyawa yang mengandung merkuri atau arsenik yang digabungkan dengan grup sulfidril; formaldehid, deterjen anionik, dan pewarna asam bereaksi dengan grup imidazol dan amino; pewarna basa, senyawa amonium kuarterner, dan deterjen kationik bereaksi dengan grup yang bersifat asam, seperti residu asam fosforat atau hidroksil. Adanya bahan organik atau bahan lain yang mengandung grup reaktif bebas menandai penurunan efektivitas bahan, yang toksisitasnya dihasilkan dari penggabungannya dengan grup reaktif komponen sel.

1). Logam-logam berat

Logam berat berperan sebagai antimikroba, karena dapat mempresipitasikan enzim-enzim atau protein esensial lain dalam sel. Logam-logam berat yang digunakan secara umum adalah Hg, Ag, As, Zn dan Cu. Daya antimikrobanya biasa disebut sebagai daya oligodinamik.

Hg : HgCl_2 pernah merupakan desinfektan yang populer, tapi kini sudah dianggap usang dan tidak bermanfaat oleh karena dapat dinaktifkan oleh bahan organik. Senyawa Hg organik efektif untuk mengobati luka-luka kecil (ringan) dan sebagai preservatif di dalam serum dan vaksin.

Ag ; Pada konsentrasi 1%, AgNO_3 biasa digunakan untuk mencegah kemungkinan terjadinya infeksi gonokokus pada mata bayi yang baru lahir. Selama beberapa tahun, penggunaan AgNO_3 telah diganti dengan penisilin, tetapi meningkatnya resistensi kuman-kuman tersebut terhadap penisilin, kini telah dipakai kembali.

As ; Arsen pernah terkenal sebagai obat pertama untuk sifilis dan kini masih dipergunakan dalam pengobatan infeksi oleh protozoa.

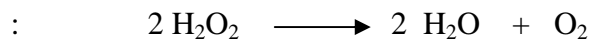
Zn ; Dalam bentuk pasta, dipakai untuk mengobati infeksi karena kuman atau jamur.

2). Bahan Pengoksidasi

Bahan antimikroba yang sering digunakan dari grup ini ialah halogen dan hidrogen peroksida. Bahan ini meng-inaktifkan enzim dengan merubah grup -SH fungsional, mejadi bentuk S-S teroksidasi. Bahan terkuat juga menempel pada grup amino, grup indol, dan grup hidroksil fenolik dari tirosin.

a). Hidrogen Peroksida

Hidrogen peroksida (H₂O₂) merupakan antiseptik yang efektif dan nontoksik. Molekulnya tidak stabil dan apabila dipanaskan akan terurai menjadi air dan oksigen



Dengan adanya ion-ion logam yang umumnya terdapat di dalam sitoplasma sel, maka selama pembentukan oksigen, dibentuk pula radikal superoksida (O₂⁻) yang akan bereaksi dengan grup bermuatan negatif dalam protein dan selanjutnya akan menginaktifkan sistem enzim yang vital. Pada konsentrasi 0,3-6,0%, H₂O₂ dipakai untuk disinfeksi dan pada konsentrasi 6,0-25,0% dipakai untuk sterilisasi. Pada konsentrasi 0,1% di dalam susu pada suhu 54°C selama 30 menit, H₂O₂ dapat mengurangi jumlah kuman sampai 99,99%.

Terdapat bukti bahwa H₂O₂ 10% bersifat virusid dan sporosid. Pasta Na₂O₂ dipakai untuk mengobati acne sedangkan ZnO₂ untuk mengobati infeksi kulit yang disebabkan kuman-kuman anaerob dan mikroaerofilik.

Larutan 3% hidrogen peroksida biasa dipakai untuk mencuci dan mendisinfeksi luka karena kuman-kuman terutama anaerob yang peka terhadap oksigen. Pada saat hidrogen peroksida digunakan terhadap jaringan, oksigen secara cepat dilepaskan oleh katalase jaringan, dan peran germisida diperpendek. Meskipun peran antibakterinya ditentukan oleh kemampuan pengoksidasinya, hal tersebut memungkinkan bahwa pembentukan radikal hidroksil bebas (·OH) lebih toksik daripada peroksida dalam suatu reaksi tergantung-besi terhitung untuk sebagian besar aktivitas tersebut.

Pada tingkat nonletal rendah di bawah keadaan aerobik, hidrogen peroksida secara langsung merobek DNA, menyebabkan kerusakan yang diperbaiki melalui jalur perbaikan inisiasi dan membutuhkan DNA polimerase I. Sebagai suatu disinfektan benda mati, hidrogen peroksida sering digunakan dan merupakan bahan yang efektif. Penggunaannya meningkat untuk disinfeksi alat-alat bedah dan lensa kontak plastik yang lembut.

b). Halogen.

Halogen meliputi senyawa-senyawa klorin dan Iodin, baik yang organik maupun yang anorganik. Kebanyakan senyawa halogen membunuh sel hidup. Membunuh sel dengan cara mengoksidasi protein, dengan demikian merusak membran dan menginaktifkan enzim-enzim. Iodin biasa digunakan untuk disinfektan kulit, sedangkan klorin untuk disinfektan air.

c). Iodin. Iodin berada dalam bentuk I_2 pada nilai pH. di bawah 6, sifat tersebut merupakan peran bakterisida maksimum. Kecepatan pembunuhan akan menurun jika pH. ditingkatkan melebihi 7,5. Ion iodida, I^- , dibentuk akibat hidrolisis iodin dalam larutan berair, yang tidak memiliki efek bakterisida secara signifikan; ion triiodida, I_3^- , juga terdapat dalam larutan berair, yang memiliki aktivitas minimum. Tinktur iodin (USP XX) mengandung 2% iodin dan 2,4% natrium iodida dalam alkohol berair (1:1). Campuran iodin dengan berbagai bahan aktif-permukaan yang berperan sebagai carrier untuk iodin, dikenal sebagai iodofor. Carrier tersebut merupakan polimer netral yang tersedia tidak hanya untuk meningkatkan kelarutan iodin, tapi juga menyediakan suatu sumber pelepasan halogen tertahan. Iodofor terbaik yang dikenal dan merupakan senyawa pilihan ialah iodin-providon (Betadin), suatu senyawa polimer 1-vinil-2-pirolidinon dengan iodin, dengan iodin yang tersedia tidak kurang dari 9% dan tidak lebih dari 12%. Pada obat untuk manusia, iodofor diganti dengan larutan iodin tinktur dan berair dianggap memiliki efek samping yang sangat kecil.

d). Klorin. Sebagai tambahan terhadap klorin itu sendiri, terdapat tiga tipe senyawa klorin—hipoklorit, kloramin organik dan anorganik. Peran disinfektan semua senyawa klorin melalui pembebasan klorin bebas. Ketika elemen klorin atau hipoklorit ditambahkan ke dalam air, klorin bereaksi dengan air untuk membentuk asam hipoklor, yang dalam larutan netral atau bersifat asam merupakan bahan pengoksidasi kuat dan suatu disinfektan efektif.



Disosiasi asam hipoklor tersebut bergantung pada pH, yang menentukan efisiensi disinfeksi. Aktivitas klorin dipengaruhi oleh adanya bahan organik. Oleh karena itu, pada disinfeksi air, untuk mengimbangi beberapa bahan yang dapat bergabung dengan klorin, dalam hal ini perlu untuk menentukan kebutuhan klorin. Biasanya menambahkan klorin dengan jumlah yang cukup terhadap persediaan air, untuk memenuhi kebutuhan klorin air tersebut, pada waktu yang sama, untuk menyediakan residu yang cukup untuk disinfeksi sempurna. Pada kasus air kolam renang, suatu spektrum organisme yang luas secara tetap diperkenalkan, dan waktu kontak dengan klorin menjadi sangat pendek. Konsentrasi residu klorin bebas sebanyak 0,6 – 1,0 ppm harus dipelihara untuk menjamin pembunuhan dengan cepat (15 – 30 detik). Klorin dan senyawa terklorinasi juga disarankan untuk sanitasi pemandian air panas dan bak mandi air panas. Untuk menjamin kebutuhan klorin air yang banyak dan untuk menyediakan suatu residu klorin yang dipercaya dapat memenuhi keamanan air, harus tetap dipelihara tersedianya tingkat klorin bebas pada 1-3 ppm.

Hipoklorit merupakan senyawa klorin yang sering digunakan dan tersedia dalam bentuk cairan dan serbuk, sebagai garam kalsium, garam litium, dan garam natrium. Hipoklorit secara luas digunakan pada makanan dan industri perusahaan untuk sanitasi perusahaan dan alat-alat pengolah makanan. Juga sering digunakan sebagai alat sanitasi pada sebagian besar rumah tangga, rumah sakit, dan bangunan umum dengan nama pasar yang terkenal bertanda Clorox dan pemutih Purex.

h. Zat Pewarna

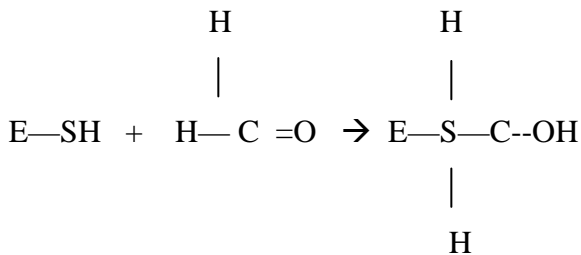
Beberapa pewarna tar-batubara, khususnya trifenilmetan dan akridin, tidak hanya mewarnai bakteri tetapi juga bersifat menghambat pada pengenceran yang sangat tinggi. Dalam rentang pH yang umum, pewarna bersifat basa sangat efektif. Pewarna tersebut memperlihatkan suatu nilai afinitas untuk grup fosfat bersifat asam dari nukleoprotein dan komponen sel lainnya, dan pewarna tersebut diinaktifkan oleh serum dan protein lain. Pemakaiannya dalam dunia kesehatan dibatasi terutama untuk perlakuan terhadap lesi dermatologik.

i. Bahan Pengalkilasi

Efek mematikan formaldehid (formalin), etilenoksida, dan glutaraldehida disebabkan peran alkilasinya pada protein. Penghambatan dari bahan tersebut bersifat irreversibel, menyebabkan modifikasi enzim dan hambatan aktivitas enzim.

Formaldehida

Grup karboksil, hidroksil, atau sulfidril dialkisasi dengan cara penggantian atom hidrogen secara langsung dengan grup hidroksimetil. Reaksi grup sulfidril pada protein enzim, sebagai berikut:



Formalin merupakan larutan encer yang mengandung 37% formaldehid, tersedia secara komersial. Jika digunakan pada konsentrasi tinggi, dapat merusak semua mikroorganisme termasuk spora. Formalin digunakan secara luas dalam menginaktifkan virus pada persiapan pembuatan vaksin, karena efeknya kecil terhadap komponen antigeniknya. Umumnya digunakan formalin 0,2-0,4%. Dalam bentuk gas formaldehid sudah digunakan untuk dekontaminasi ruangan, bangunan, pabrik dan alat-alat.

Glutaraldehida

Dalam beberapa tahun terakhir, glutaraldehida, dialdehida 5-karbon jenuh banyak digunakan sebagai sterilan dingin untuk alat-alat bedah, juga untuk perlengkapan endoskopi dan terapi saluran pernafasan. Sebagai bakterisida dan sporisida glutaraldehida 10 kali lebih efektif dari formaldehida dan dianggap kurang toksik. Efektivitas bakterisidanya tidak berkurang dengan adanya bahan yang mengandung protein.

Etilen Oksida

Etilen Oksida digunakan secara luas dalam sterilisasi dengan gas. Bahan tersebut aktif merusak semua tipe bakteri termasuk sporanya dan basil tuberkel, tetapi kerjanya lambat. Bahan ini sering digunakan untuk sterilisasi bahan-bahan yang

dapat rusak karena panas seperti tabung polietilen, alat-alat kedokteran, biologik, elektronik dan obat-obatan.

j. Bahan Yang Mendenaturasi Protein

Pada tempat asalnya, setiap protein memiliki suatu konformasi karakteristik yang dibutuhkan untuk ketepatan fungsinya. Bahan yang merubah konformasi protein melalui denaturasi menyebabkan pembentangan rantai polipeptida sehingga rantai menjadi melilit atau melengkung secara acak dan tidak teratur. Diantara bahan kimia yang dapat mendenaturasi protein seluler ialah asam, alkali, alkohol, aseton, dan pelarut organik lain. Pelarut organik, sudah dibahas pada bagian terdahulu, yaitu mengenai target utamanya terhadap membran sel.

1). Asam dan alkali.

Dalam melaksanakan aktivitas antibakterinya, asam dan alkali menggunakan ion OH^- dan H^+ bebas, melalui pennggabungan molekul, atau merubah pH lingkungan organisme. Asam mineral kuat dan alkali kuat memiliki komponen disinfektan yang sebanding untuk memperluas pemecahannya (disosiasi) dalam larutan. Beberapa hidroksida, menunjukkan derajat disosiasi lebih efektif, diperkirakan bahwa kation metalik menggunakan suatu peran toksik secara langsung pada organisme.

Molekul asam organik secara utuh, mampu melaksanakan aktivitas antibakteri. Meskipun tingkat disosiasinya lebih rendah dibandingkan dengan asam mineral, kadang-kadang molekul asam organik dapat bersifat disinfektan poten. Asam benzoat, secara luas digunakan untuk pengawetan makanan, keefektifannya hampir tujuh kali dibanding asam hidroklorat, yang memperlihatkan bahwa seluruh molekul dan radikal organiknya memiliki aktivitas disinfektan. Asam organik lain yang secara luas digunakan sebagai pengawet makanan untuk memperpanjang penyimpanan produk makanan ialah asam propionat, asam sitrat, asam asetat dan asam laktat.

2). Aldehida.

Aldehida, membunuh sel dengan mendenaturasi protein. Larutan formaldehid 20% dalam 65-70% alkohol merupakan cairan yang sangat baik untuk

sterilisasi alat-alat, dengan perendaman selama 18 jam. Tetapi karena meninggalkan residu, maka alat-alat tersebut harus dibilas terlebih dahulu sebelum dipakai.

Glutaraldehid merupakan larutan seefektif formaldehid, terutama apabila pH nya 7,5 atau lebih. *Staphylococcus* dan sel vegetatif lain akan mati dalam waktu 5 menit, *M. tuberculosis* dan virus dalam waktu 10 menit sedangkan untuk membunuh spora diperlukan 3-12 jam. Larutan ini bersifat nontoksik dan tidak iritatif bagi penderita.

3). Evaluasi Aktivitas Bahan Kimia Germisida

Untuk mengetahui kekuatan suatu bahan kimia harus dibandingkan dengan bahan kimia standar yang telah diketahui kekuatannya, misalnya disinfektan fenol. Ada beberapa cara untuk membandingkannya, tetapi salah satu cara yang paling baik ialah dengan pengujian koefisien fenol.

Koefisien fenol merupakan nilai perbandingan efektivitas antara suatu germisida yang diuji dengan efektivitas fenol terhadap mikroorganisme uji yang sama. Misalnya, suatu germisida dapat mematikan populasi standar *Staphylococcus aureus* dengan pengenceran 1 : 250, sedang fenol dapat mematikan populasi standar yang sama dengan pengenceran 1 : 60, maka nilai koefisien fenol germisida yang diuji ialah $250/60 (= 4,2)$. Nilai koefisien fenol ini berarti bahwa germisida yang diuji tersebut lebih efektif 4,2 kali dari pada fenol dalam mematikan *S. aureus* secara in vitro.

2. Pengendalian Mikroorganisme Secara Fisik

Sebagian besar bakteri patogen memiliki keterbatasan toleransi terhadap berbagai kekuatan lingkungan fisiknya. dan memiliki sedikit kemampuan untuk bertahan hidup di luar tubuh inang. Bakteri lain dapat membentuk spora yang sangat resisten terhadap keadaan fisik lingkungan dan membantu mikroorganisme melalui peningkatan nilai pertahanan hidup.

Pada prinsipnya mikroorganisme dapat dikendalikan, yaitu dengan cara dibasmi, dihambat pertumbuhannya dalam lingkungan, dengan menggunakan berbagai proses atau sarana fisik. Proses atau sarana yang digunakan bergantung pada banyak faktor dan hanya dapat ditentukan setelah diadakan evaluasi terhadap keadaan khusus tersebut. Misalnya, untuk membasmi mikroorganisme penyebab

infeksi pada hewan sakit yang mati, cara yang memungkinkan adalah membakar hewan tersebut,. Tetapi, bila kita perlu mensterilkan kantung plastik yang akan digunakan untuk menampung darah, maka kita harus memilih suatu proses sterilisasi yang tidak akan merusak kantung plastik tersebut. Penelitian serta pengalaman dapat memberikan pengarahannya untuk memilih metode yang paling sesuai.

1). Panas

Panas sangat dipercaya dan secara umum merupakan metode yang digunakan dalam sterilisasi, bilamana memungkinkan, harus menjadi metode pilihan. Sebagai tipe lain disinfeksi, sterilisasi suatu populasi bakteri dengan panas merupakan proses yang umum, dan kinetik kematian populasi tersebut adalah eksponensial. Yang pertamakali harus diperhatikan dalam inaktivasi dengan menggunakan panas adalah suatu bagian konstanta organisme yang mengalami perubahan senyawa kimia dalam setiap unit waktu dan salah satu dari perubahan tersebut, cukup untuk menginaktifkan suatu organisme.

Waktu yang dibutuhkan untuk sterilisasi umumnya berhubungan dengan temperatur paparan. Hubungan ini dapat menggambarkan apa yang disebut waktu kematian *termal* (*thermal death time*), yang berkenaan dengan waktu minimal yang dibutuhkan untuk membunuh suatu suspensi mikroorganisme pada temperatur yang ditetapkan sebelumnya dalam lingkungan khusus. Karena koefisien temperatur tinggi dilibatkan dalam sterilisasi panas, suatu perubahan temperatur minimum secara signifikan merubah waktu kematian termal. Sesuai dengan hukum aksi massa, waktu sterilisasi secara langsung berhubungan dengan jumlah mikroorganisme dalam suspensi.

Mekanisme Kerusakan Oleh Panas. Inaktivasi bakteri oleh panas tidak dapat digambarkan dalam peristiwa biokimia sederhana. Meskipun efek letal panas lembab suatu temperatur tertentu biasanya dihubungkan dengan denaturasi dan koagulasi protein, pola kerusakan oleh panas tersebut cukup kompleks, dan secara tidak diragukan koagulasi menyembunyikan suatu perubahan kecil yang menginduksi sel sebelum koagulasi menjadi nyata.

Peristiwa yang mematikan terutama produksi rantai-tunggal (terlepasnya rantai) DNA. Hilangnya viabilitas (kelangsungan hidup) sel oleh panas sedang, dapat

dihubungkan dengan pelepasan rantai DNA tersebut. Kerusakan DNA terlihat bersifat enzimatik, sebagai akibat dari aktivasi nuklease. Kemampuan sel untuk memperbaiki kerusakan dan memperoleh viabilitasnya bergantung pada tempat fisiologik dan susunan genetik organisme.

Panas juga dapat menghilangkan kekuatan fungsional membran, membocorkan molekul kecil dan 260 nm pengabsorpsi materi. Materi tersebut berasal dari degradasi ribosom oleh ribonuklease yang teraktivasi karena perlakuan panas. Dari keadaan tersebut, dapat dilihat adanya hubungan antara degradasi RNA ribosomal dengan hilangnya viabilitas sel karena temperatur tinggi.

Mekanisme kerusakan mikroorganisme oleh panas kering berbeda dengan kerusakan oleh panas lembab. Efek letal panas kering, atau desikasi (pengawetan melalui pengeringan) secara umum, biasanya karena denaturasi protein, kerusakan oksidatif, dan efek toksik dari meningkatnya elektrolit. Dalam keadaan tidak ada air, terjadi pengurangan sejumlah grup polar pada rantai peptida, dan banyak energi dibutuhkan untuk melepaskan molekul tersebut.

a). Panas Lembab

Peralatan dan bahan mikrobiologis dapat disterilkan dengan panas kering menggunakan oven atau dengan panas lembab yang dilengkapi dengan uap (Tabel 4-4). Diantara dua metode tersebut, panas lembab lebih disukai, karena lebih cepat membunuh mikroorganisme. Panas lembab pada temperatur 60°C selama 30 menit, cukup untuk sterilisasi sebagian besar bakteri mesofilik yang tidak membentuk spora. Dengan perkecualian yaitu *S. aureus* dan *Enterococcus faecalis*, yang membutuhkan waktu paparan 60 menit pada temperatur 60°C. Paparan dengan waktu 5-10 menit pada temperatur 80°C, dapat menghancurkan bentuk vegetatif semua bakteri, ragi, dan fungi. Diantara sebagian besar sel tahan-panas, ialah spora *Clostridium botulinum*, bakteri anaerobik yang menyebabkan keracunan makanan. Spora bakteri ini dirusak pada temperatur 120°C selama 4 menit, jika digunakan temperatur 100°C, membutuhkan waktu selama 5,5 jam.

Dua istilah digunakan untuk menyatakan resistensi bakteri terhadap panas yaitu : waktu kematian termal (“*thermal death time*”) dan waktu pengurangan desimal (“*decimal reduction time*”). Waktu kematian termal mengacu pada periode waktu terpendek yang dibutuhkan untuk mematikan suatu suspensi bakteri (atau

spora) pada suatu keadaan dan suhu tertentu. Waktu pengurangan desimal mengacu pada pengurangan khusus dalam hal jumlah sel hidup yaitu, lamanya waktu dalam menit untuk mengurangi populasi sebesar 90%. Dengan perkataan lain, waktu dalam menit yang dibutuhkan oleh kurva waktu kematian termal, untuk mengalami satu pengurangan logaritmik (pengurangan populasi mikroba sebesar 90%).

Tabel 4-4 Waktu minimal yang dibutuhkan untuk sterilisasi dengan panas lembab dan panas kering pada temperatur tertentu

Temperatur	Panas lembab		Panas Kering
	Waktu (menit)	Tekanan (lb)	Waktu (menit)
121°C	15	15	-
126°C	10	20	-
134°C	3	30	-
140°C	-	-	180
150°C	-	-	150
160°C	-	-	120
170°C	-	-	60

Penggunaan panas lembab untuk merusak bakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara : pendidihan, uap bebas, dan uap dengan tekanan. Dari ketiga cara tersebut, uap dengan tekanan, paling efisien karena membuat temperatur di atas mampu mendidihkan titik air. Temperatur tersebut dibutuhkan untuk menghancurkan spora bakteri yang sangat tahan-panas.

Sterilisasi uap digunakan dalam suatu ruangan bertekanan yang disebut autoklaf. Dasar tipe sterilisasi ini yang terpenting adalah seluruh bahan yang akan disterilkan harus kontak dengan uap jenuh pada temperatur yang dibutuhkan untuk waktu tertentu. Untuk mensterilkan benda atau bahan yang kecil, digunakan temperatur 121°C dengan waktu 20 menit (15 pon tekanan uap per inci²) atau 15 lb/in² (5 kg/cm²), suhu, waktu dan tekanan tersebut disediakan sebagai batas keamanan.

Tindalisasi. Untuk mensterilkan cairan tertentu atau bahan semi-padat (“*semisolid*”) yang mudah rusak oleh panas, digunakan metode pemisahan sterilisasi. Proses ini sering disebut **tindalisasi**, terdiri dari pemanasan bahan pada temperatur 80°C atau 100°C selama 30 menit, dalam tiga hari berturut-turut. Tipe sterilisasi bertingkat ini dilakukan dengan alasan bahwa sel vegetatif dan beberapa spora dibunuh selama pemanasan pertama dan spora yang sangat resisten secara bertahap mengalami germinasi dan dibunuh selama pemanasan kedua dan ketiga. Metode tersebut sering digunakan untuk sterilisasi medium biakan sensitif-panas yang mengandung bahan-bahan seperti karbohidrat, telur, dan serum.

Pasteurisasi. Seperti disebutkan di atas, sebagian besar bakteri vegetatif dapat terbunuh dengan temperatur 60°C - 65°C dalam waktu yang relatif pendek. Penggunaan temperatur pada rentang tersebut sangat penting dalam pasteurisasi susu dan persiapan vaksin bakterial. Meskipun pada awal ditemukannya oleh Pasteur, memiliki arti penghancuran mikroorganisme yang menyebabkan kerusakan minuman anggur (*wine*) dan bir, sekarang pasteurisasi digunakan untuk membuat makanan dan keamanan minuman untuk konsumsi. Penggunaan perlakuan tersebut untuk pasteurisasi susu yang terdiri dari pemanasan pada temperatur 62°C selama 30 menit, dilanjutkan dengan pendinginan secara cepat. Temperatur tersebut tidak mensterilkan susu, tetapi membunuh semua bakteri penyebab-penyakit yang sering ditularkan melalui susu.

Pemanasan susu pada temperatur yang terlampau tinggi dihindari, karena menghasilkan cita rasa yang kurang sedap. *Mycobacterium tuberculosis*, selama bertahun-tahun diduga sebagai patogen yang paling tahan-panas, dan terbawa dalam susu mentah. Dengan alasan tersebut maka pasteurisasi susu dilakukan dengan temperatur 61,7°C selama 30 menit; *M. tuberculosis* terbunuh pada temperatur 60°C dalam waktu 15 menit. Namun, kemudian ditemukan bahwa suatu riketsia yaitu *Coxiella burnetii*, penyebab demam Q, terdapat juga dalam susu serta bersifat lebih tahan-panas daripada *M. tuberculosis*. Akibatnya, temperatur untuk pasteurisasi susu dinaikkan menjadi 62,8°C selama 30 menit.

Air mendidih. Sel-sel vegetatif mikroorganisme akan terbunuh dalam 10 menit dalam air mendidih. Namun, beberapa spora bakteri dapat bertahan dalam kondisi seperti ini selama berjam-jam. Merebus peralatan di dalam air mendidih selama waktu yang singkat lebih memungkinkan untuk disinfeksi daripada sterilisasi, karena itu air mendidih tidak dapat diandalkan untuk sterilisasi.

b. Panas Kering

Sterilisasi dengan panas kering membutuhkan temperatur yang lebih tinggi dan periode pemanasan yang lebih panjang daripada sterilisasi dengan uap. Digunakan terutama untuk sterilisasi alat-alat gelas dan bahan-bahan seperti minyak, jeli, dan serbuk yang tak-tahan terhadap uap. Peran mematikan dihasilkan dari panas yang berada pada bahan-bahan tempat organisme menempel, jadi bukan dari udara panas yang mengelilinginya; penting untuk ditegaskan pada pemanasan secara umum terhadap benda yang disterilkan. Tipe panas kering yang sering digunakan secara luas adalah oven udara-panas. Sterilisasi membutuhkan waktu 2 jam pada temperatur 180°C, untuk membunuh semua organisme termasuk pembentuk spora. Tipe panas kering lain yang sering digunakan adalah “insinerasi” (pembakaran) bahan sekali pakai (“*disposable objects*”) atau pembakaran bahan yang mengandung mikroorganisme. Pembakaran digunakan untuk memusnahkan bangkai, hewan-hewan penelitian yang terinfeksi dan bahan terkontaminasi lain yang akan dibuang. Pemusnahan mikroorganisme dengan pembakaran juga dilakukan secara rutin di laboratorium terhadap jarum inokulasi bakteriologi, tutup tabung dari kain kasa-kapas, dan alat-alat yang kecil dengan cara melalukan benda-benda tersebut melalui lidah api suatu alat pembakar Bunsen

Tabel 4-5 Waktu pemusnahan spora bakteri dengan panas kering

(Sumber : Brock & Madigan,1991)

Lamanya pemusnahan pada temperatur °C / menit							
Mikroorganisme	120	130	140	150	160	170	180
<i>B. anthracis</i>			60-120		9-90		3
			180				
<i>C. botulinum</i>	120	60	15-60		20-25	10-15	5-10
<i>C. perfringens</i>	50	15-35	5				
<i>C. tetani</i>		20-40	5-15	30	12	5	1

Spora tanah	180	30-90	15-60	15
-------------	-----	-------	-------	----

2). Pembekuan

Meskipun beberapa bakteri dapat dibunuh dengan temperatur paparan dingin, pembekuan merupakan metode yang tidak layak untuk sterilisasi. Penggunaannya terutama untuk mengawetkan biakan bakteri. Pembekuan dan pencairan secara berulang, lebih merusak bakteri daripada memperpanjang penyimpanannya pada suhu pembekuan. Pembekuan bakteri tersebut, akan membentuk kristal es di luar sel yang menyebabkan arus balik air dari bagian dalam sel, mengakibatkan suatu peningkatan elektrolit intraseluler dan denaturasi protein. Membran sel dirusak, dan terjadi suatu kebocoran senyawa organik intraseluler. Kebocoran bahan-bahan yang mengandung fosfor anorganik, ribosa, peptida, dan nukleotida yang meningkat sebagai akibat aktivasi peptidase dan ribonuklease laten.

Ketika bakteri dibekukan secara cepat pada temperatur kurang dari -35°C , bentuk kristal es di dalam sel, menghasilkan efek mematikan selama pencairan. Jika, kultur dikeringkan dengan mengosongkan daerah pembekuan tersebut dengan cara liofilisasi atau *freeze-drying*, awal kematian secara besar-besaran dapat dikurangi. Metode ini sering digunakan untuk pengawetan biakan bakteri.

Bakteri dan virus dapat bertahan hidup pada temperatur -20°C (temperatur alat pembeku mekanis), -70°C (temperatur es kering, yaitu CO_2 beku), dan bahkan pada temperatur -195°C (temperatur nitrogen cair). Nitrogen cair sering digunakan untuk mengawetkan biakan virus dan mikroorganisme lain, juga persediaan sel-sel jaringan mammalia yang digunakan dalam virologi hewan serta tujuan riset lainnya. Prosedur pendinginan mula-mula dapat mematikan sebagian sel itu, namun jumlah yang dapat bertahan akan lebih besar dan tetap hidup untuk waktu lama.

3). Pendinginan

Temperatur di bawah temperatur optimum pertumbuhan dapat menekan laju metabolisme, dan bila temperatur terlalu rendah, maka metabolisme serta pertumbuhan akan terhenti. Temperatur rendah sangat bermanfaat untuk

mengawetkan biakan karena mikroorganisme mempunyai kemampuan yang unik untuk dapat bertahan hidup pada keadaan yang sangat dingin.

Biakan beberapa bakteri, khamir dan kapang yang ditumbuhkan pada media agar dalam tabung reaksi, dapat tetap hidup selama berbulan-bulan pada temperatur lemari es yaitu sekitar 4-7°C. Metode ini baik untuk mengawetkan beberapa biakan tetapi tidak untuk semua mikroorganisme, karena ada bakteri yang tumbuh optimum pada temperatur tersebut, sehingga media pertumbuhan akan habis dan dapat membunuh bakteri tersebut.

Dengan demikian menjadi jelas bahwa temperatur rendah, betapapun ekstrimnya, tidak dapat diandalkan untuk disinfeksi ataupun sterilisasi. Mikroorganisme yang dipelihara pada temperatur beku atau di bawah temperatur beku, dianggap dorman karena tidak memperlihatkan adanya aktivitas metabolik yang dapat dideteksi. Hal ini merupakan dasar untuk keberhasilan pengawetan pangan dengan menggunakan temperatur rendah.

4). Radiasi

Sinar matahari memiliki aktivitas bakterisida dan memainkan peranan penting dalam sterilisasi yang bersifat spontan yang terjadi pada keadaan alami. Peran desinfektan tersebut terutama karena kandungan sinar ultravioletnya, yang sebagian besar disaring oleh kaca dan adanya ozon pada atmosfer bumi dan polutan atmosfer (asap).

Sinar elektromagnetik lain dengan panjang gelombang lebih pendek, seperti sinar-x dan sinar- γ , juga sinar yang dihasilkan dari kerusakan radioaktif dan oleh akselerator ion, juga dapat memperlihatkan efeknya jika diserap oleh bakteri.

Efek Radiasi. Hanya cahaya yang diserap (diabsorpsi) yang membantu reaksi fotokimia. Sebagai molekul pengabsorpsi cahaya, yang menerima energi dalam bentuk unit dengan ciri tersendiri yang disebut "kuanta". Energi suatu kuantum berbanding terbalik dengan panjang gelombangnya. Pada reaksi primer, hanya 1 kuantum cahaya yang diserap oleh setiap molekul substansi pengabsorpsi. Jumlah kuantum yang diabsorpsi oleh suatu sistem biologi sebanding dengan lamanya dan intensitas produk radiasi, juga sebanding dengan koefisien absorpsi bahan terirradiasi. Absorpsi kuantum oleh elektron dalam satu atom menyebabkan

inaktivasi molekul, yang selanjutnya menggunakan kelebihan energi untuk merubah senyawa kimia, seperti dekomposisi dan penyusunan-kembali bagian dalam (“*internal rearrangements*”) , atau dapat hilang sama sekali sebagai panas atau fluoresensi.

Radiasi memiliki energi yang cukup untuk memindahkan suatu elektron secara sempurna dari suatu atom dan menghasilkan muatan listrik (ionisasi) , atau energi hanya cukup untuk memindahkan elektron ke tempat energi yang lebih tinggi (eksitasi). Energi sebanding dengan 10 elektron volt yang dibutuhkan untuk menarik suatu elektron keluar dari suatu atom. Hal ini dilakukan oleh sinar-x dan sinar- γ yang mengionisasi atom melalui pemasukan elektron dari beberapa atom melalui radiasi.

Meskipun energi kuantum diabsorpsi oleh molekul, dalam rentang sinar ultra violet dan sinar yang dapat dilihat, tidak dapat memindahkan suatu elektron secara sempurna, eksitasi yang dihasilkan sering mengarah pada perubahan fotokimia. Pada rentang spektrum inframerah, energi tidak cukup untuk memulai perubahan senyawa kimia dalam bahan biologi, dan energi yang diserap akan dihamburkan sebagai panas.

a. Radiasi Ultraviolet

Mekanisme Kerusakan Oleh Radiasi Ultraviolet. .Cahaya ultraviolet meliputi spektrum radiasi dari 15 – 390 nm. Efektivitas cahaya ultraviolet sebagai suatu bahan mutagenik dan mematikan berhubungan erat dengan panjang gelombangnya. Panjang gelombang bersifat bakterisida yang paling efektif ialah pada rentang 240 – 280 nm, dengan panjang optimum sekitar 260 nm, yang dilaporkan mengalami absorpsi maksimum oleh DNA. Mekanisme efek mematikan sinar UV yang terbanyak pada bakteri, karena absorpsi menyebabkan kerusakan DNA. Radiasi UV mengarah pada pembentukan ikatan kovalen antara residu pirimidin yang berdekatan satu sama lain pada rantai yang sama, menghasilkan formasi dimer pirimidin tipe-siklobutan. Dimer ini merupakan bentuk penyimpangan DNA dan bergabung dengan pasangan basa normal. Hal tersebut mengakibatkan suatu hambatan sintesis DNA dan efek sekundernya menghambat pertumbuhan dan respirasi. Cahaya UV juga bersifat mutagenik. Efek mutagenik bergantung pada induksi oleh dimer siklobutan dari respon SOS, yang secara serasi mengatur grup operon terrepresi secara negatif.

Efek lain dari radiasi UV, misalnya fotohidrasi sitosin dan pautan-silang rantai DNA komplemen, tetapi UV dalam dosis yang sangat tinggi perlu diatur sebagai mekanisme terbesar untuk merusak sel.

Penggunaan Cahaya UV. Radiasi UV dapat dihasilkan secara buatan dengan lampu asap merkuri. Unit energi radiasi diukur dalam mikrowatt per unit area per unit waktu. Cahaya UV 15 watt menghantarkan radiasi $38 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{s}$ pada jarak 1 m. Radiasi UV sama efektifnya untuk bakteri gram-positif maupun gram-negatif. Untuk sebagian besar bakteri yang tidak membentuk spora, dosis yang mematikan bervariasi mulai dari $1800 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{s}$ sampai $6500 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{s}$. Spora bakteri membutuhkan 10 kali dosis tersebut.

Saat ini sudah ada lampu yang disebut lampu germisidal, yang memancarkan sinar ultraviolet dengan konsentrasi tinggi dengan daya germisidal paling efektif, yaitu terletak pada daerah 260 – 270 nm. Lampu germisidal banyak digunakan untuk mengurangi populasi mikroba di kamar-kamar bedah rumah sakit, di ruang aseptik untuk pengisian obat-obatan industri farmasi, pada tempat pengisian produk steril ke dalam tabung kecil atau ampul dengan pipet dan di industri-industri pangan serta persusuan untuk membersihkan permukaan yang terkontaminasi.

Meskipun komponen radiasi UV secara tidak diragukan bersifat bakterisida, tetapi radiasi UV tidak layak digolongkan sebagai bahan pensterilisasi karena ketidakjelasan dalam penggunaannya. Tidak seperti radiasi ionisasi, energi radiasi UV adalah rendah, dan daya tembusnya kecil. Radiasi UV tidak menembus benda padat, dan hanya sedikit menembus benda cair. Bahkan selapis kaca yang tipis dapat menahan sebagian besar sinar tersebut. Oleh karena itu, sinar UV tidak berpengaruh terhadap mikroorganisme yang terlindung dari pancaran langsung sinar tersebut (“*incident beams*”). Jadi hanya mikroorganisme yang ada di permukaan suatu benda yang secara langsung terkena sinar ultraviolet, yang rentan terhadap pembasmian.

b. Radiasi Pengionisasi

Komponen Radiasi Pengionisasi. Radiasi pengionisasi dikelompokkan menjadi dua golongan sesuai dengan komponen fisiknya : (1) yang memiliki masa dan bermuatan

atau tidak bermuatan, dan (2) hanya energi saja. Beberapa radiasi pengionisasi merupakan produk dari kerusakan radioaktif (sinar- α , - β , - γ), dan yang lainnya dihasilkan pada suatu mesin sinar-x, melalui pengeboman partikel, atau reaktor nuklir. Radiasi pengionisasi yang memiliki nilai terbesar untuk keperluan sterilisasi ialah sinar-x, sinar- γ elektromagnetik, dan partikel sinar katoda (elektron terakselerasi buatan). Radiasi tersebut memiliki sejumlah energi yang lebih besar daripada yang dikandung dalam radiasi UV, sehingga kemampuan untuk menghasilkan efek mematikan juga lebih besar. Daya tembus radiasi pengionisasi mendukung efektivitasnya sebagai bahan sterilisasi. Sinar katoda, karena sifat partikelnya, memiliki energi dari dalam, dan akibatnya memiliki daya tembus terbesar, meskipun sinar- α dan sinar- γ memiliki daya tembus yang lebih besar. Karena sifat mekanisme dilibatkan, maka aktivitas optimum tidak pernah terjadi pada permukaan bahan yang disinari. Dengan sinar- γ , aktivitas optimum terjadi hanya bagian dalam atau di bawah permukaan, dengan sinar katoda hal itu terjadi lebih dalam beberapa sentimeter

Efek Mematikan. Sebagian besar bakteri yang tidak membentuk spora, relatif sensitif terhadap radiasi pengionisasi. Diantara bakteri tersebut, bakteri gram-positif umumnya lebih resisten daripada bakteri Gram-negatif, spora sebagian besar mikroorganisme bersifat resisten-radiasi.

Kematian mikroorganisme karena paparan radiasi pengionisasi biasanya bersifat eksponensial melalui periode sterilisasi, meskipun dalam beberapa kasus hal tersebut cenderung sigmoidal. Kemiringan kurva waktu-survivor ditentukan oleh intensitas penyinaran, tetapi hubungan dosis dengan persentase organisme yang dibunuh, selalu eksponensial. Menuju akhir proses, suatu efek bagian akhir menjadi mencolok, perlu ditegaskan bahwa dosis penuh secara yakin sudah diberikan.

Penggunaan Praktis. Meskipun dosis sterilisasi bergantung pada tingkat kontaminasi awal, suatu dosis 2,5 Mrad radiasi pengionisasi ($1 \text{ Mrad} = 10^6 \text{ rad}$, $1 \text{ rad} = \text{absorpsi energi } 100 \text{ ergs/gram udara}$) sudah diterima sebagai dosis sterilisasi. Dosis tersebut, cukup untuk membunuh sebagian besar mikroorganisme dan juga tersedia sebagai dosis yang aman untuk digunakan dalam praktek.

Tabel 4-6 Sensitivitas mikroorganisme dan fungsi biologi

Fungsi Spesies	Tipe mikroorganisme	D10^a(Gy).
<i>Clostridium botulinum</i>	Bakteri berspora anaerobik Gram-positif	3,300
<i>Clostridium tetani</i>	Bakteri berspora anaerobik Gram-positif	2,400
<i>Bacillus subtilis</i>	Bakteri berspora anaerobik Gram-positif	600
<i>S. typhimurium</i>	Bakteri Gram-negatif	200
<i>Lactobacillus brevis</i>	Bakteri Gram-positif	1,200
<i>Deinococcus radiodurans</i>	Bakteri Gram-negatif resisten-radiasi	2,200
<i>Aspergillus niger</i>	Fungi	500
<i>Saccaromyces cerviceae</i>	Ragi	500
Mulut dan kaki	Virus	13,000
Coxsackie	Virus	4,500
Inaktivasi enzim	-	20,000-50,000
Deinfestasi Serangga	-	1,000-5,000.

Keterangan : D10^a Gy adalah jumlah radiasi yang penting untuk mengurangi populasi awal atau 10 kali tingkat aktivitas (1 logaritma). (1Gy = 100 rad).

Bidang Farmasi dan kedokteran, merupakan bidang utama yang menggunakan radiasi pengionisasi untuk sterilisasi. Khususnya untuk sterilisasi benda atau bahan seperti alat bedah sekali-pakai, benang jahit terbuat dari usus hewan (“*cat gut*”), benang jahit nilon, dan alat-alat yang berhubungan dengan kedokteran.

5). Vibrasi Sonik Dan Ultrasonik

Vibrasi suara pada frekuensi tinggi, dalam rentang ultrasonik dan dapat didengar (20-1000 kc), merupakan teknik yang sering digunakan untuk merusak sel mikroba. Generator gelombang suara yang secara luas digunakan untuk keperluan

operasi, dalam rentang frekuensi 9-100 kc/s. Tidak ditemukan frekuensi khusus, tetapi secara umum dengan meningkatkan frekuensi gelombang ultrasonik.

Vibrasi ultrasonik juga dapat menyebabkan depolimerisasi makromolekul dan pengelompokan-kembali intramolekuler. Pelepasan rantai-ganda oleh vibrasi sonik dihasilkan untuk pemindahan DNA, dan integrasi kedalam genom inang dapat dihambat.

Mikroorganisme memiliki sensitivitas yang berbeda terhadap vibrasi sonik dan ultrasonik. Sebagian besar batang Gram-negatif bersifat rentan, dan diantara sebagian besar yang resisten adalah *Staphylococcus*, membutuhkan waktu paparan yang lama. Meskipun vibrasi sonik dapat mematikan populasi bakteri, tetapi ada juga yang bertahan hidup. Akibatnya, perlakuan dengan vibrasi sonik tidak memiliki nilai praktis untuk sterilisasi dan disinfeksi.

Sehubungan dengan pengendalian mikroorganisme, yang terpenting ialah mekanisme kerja gelombang suara berfrekuensi tinggi pada pembersih ultrasonik, yaitu unit-unit berisi cairan yang dilalui oleh gelombang suara tersebut. Gelombang suara berfrekuensi tinggi menempuh perjalanannya melalui cairan tadi, maka terbentuklah sejumlah besar gelombang kecil yang setelah mencapai ukuran tertentu menghilang dengan sangat cepat. Fenomena ini dinamakan kavitasi ("*cavitation*"), yaitu tenaga yang ditimbulkan akan menghilangkan debu atau partikel-partikel (termasuk mikroorganisme) dari permukaan benda yang ada dalam cairan tersebut.

Pembersih ultrasonik lebih efisien untuk membersihkan bahan organik dari peralatan dibandingkan dengan penyikatan secara mekanis.

6). Penyaringan

Penyaringan atau filtrasi merupakan metode yang digunakan dalam laboratorium untuk sterilisasi bahan-bahan yang tidak-tahan panas. Meskipun saringan mekanik memainkan peranan dalam semua proses penyaringan, fenomena absorpsi dan elektrostatik dan konstruksi fisik filter juga secara nyata memiliki pengaruh. Sejumlah tipe filter sudah digunakan untuk keperluan sterilisasi. Bahan filter tersebut merupakan suatu lapisan yang relatif tebal terbuat dari asbes, tanah diatom, porselen atau kaca berpori ("*sintered glass*"). Sebagian besar tipe lama (Berkefeld, Chamberland, Seitz) sudah diganti dengan filter membran yang terdiri

dari cakram berpori dari ester selulosa lembam (lamban) atau bahan polimerik lain dengan pori-pori berukuran tepat serta seragam. Cakram tersebut sedikit meyerap cairan yang tersaring, maka selanjutnya sering digunakan untuk sterilisasi bahan-bahan tertentu yang tidak tahan, tanpa kelemahan, digunakan suhu tinggi dalam sterilisasi panas.

Filter Membran. Filter membran yang layak memiliki ukuran pori 14-0,023 μm . Filter berukuran 0,22 μm , secara luas digunakan untuk sterilisasi karena ukuran pori tersebut lebih kecil daripada bakteri. Filter tersebut harus selalu digunakan untuk sterilisasi larutan yang mengandung serum, plasma, atau tripsin dimana sering terdapat spesies *Pseudomonas* atau bakteri kecil lain.

Filter membran berperan penting sebagai penyaring bersifat dua-dimensi, menahan semua partikel yang ukuran pori. Pada penyaringan cairan, sejumlah besar partikel apapun yang lebih kecil dari ukuran pori, ditahan oleh tekanan van der Waals, dengan terperangkap secara acak pada pori, dan dengan menambah partikel yang tertahan sebelumnya. Sifat penting filter membran adalah semua partikel yang lebih besar dari ukuran pori secara positif ditahan pada permukaan filter. Mikroorganisme ditahan pada lapisan filter bukan hanya disebabkan ukuran pori filter, tetapi juga disebabkan oleh kombinasi ukuran pori, sifat jaringan bahan berserat atau partikel penyusun lapisan saringan, dan muatan listrik bahan-bahan tersebut.

Filter udara. Sudah dikembangkan filter yang memiliki efisiensi tinggi untuk menyaring udara yang berisik partikel ("*high efficiency particulate air filter*" atau *HEPA*) ,memungkinkan dialirkannya udara bersih ke dalam ruang tertutup. Tipe filtrasi udara semacam ini bersama dengan sistem aliran udara laminar (*laminar air flow*), sekarang banyak digunakan untuk menyediakan udara yang bebas dari debu dan bakteri.

Filter udara digunakan di dalam ruang transfer mikrobiologi untuk mencegah timbulnya kontaminasi pada tempat pengisolasian bakteri khususnya patogen untuk mencegah penyebaran infeksi dan di dalam ruang-ruang yang digunakan untuk

merakit peralatan elektronik miniatur karena kontaminasi oleh partikel-partikel bahkan sekecil bakteri dapat merusak daya guna komponen peralatan tersebut.

Pelindung muka. Pelindung terbuat dari kain kasa yang dilengkapi dengan pita perekat atau tali pengikat, karena digunakan untuk menutup mulut dan hidung maka disebut pelindung muka; alat ini biasa digunakan oleh tim ahli bedah selama berlangsungnya operasi, sebagai filter untuk menyaring mikroorganisme pada waktu bernafas sehingga tidak mencemari ruang bedah.

Pelindung muka juga digunakan petugas rumah sakit untuk melindungi diri dari pasien-pasien yang menderita penyakit menular, dengan cara menyaring mikroorganisme asal-udara yang masuk melalui pernafasan.

7). Pengerinan

Pengerinan sel mikroorganisme dan lingkungannya sangat mengurangi, atau menghentikan aktivitas metabolik, yang diikuti dengan kematian sejumlah sel. Secara umum, jangka waktu hidup mikroorganisme setelah pengerinan bervariasi tergantung pada faktor-faktor berikut:

- a. Macam mikroorganisme
- b. Bahan yang dipakai untuk mengeringkan mikroorganisme
- c. Kesempurnaan proses pengerinan
- d. Kondisi fisik (cahaya, temperatur, kelembaban) yang dikenakan pada mikroorganisme yang dikeringkan

Bakteri kokus gram negatif seperti *Neisseria gonorrhoeae* dan *Neisseria meningitidis* sangat peka terhadap kekeringan, sehingga akan mati dalam waktu beberapa jam. *Streptococcus* jauh lebih resisten dan ada yang dapat bertahan berminggu-minggu setelah dikeringkan. *Bacillus tuberculosis* yang dikeringkan bersama dahak dapat tetap hidup selama jangka waktu lebih lama lagi. Spora kering mikroorganisme telah diketahui dapat tetap hidup sampai waktu tak terbatas.

8). Tekanan osmotik

Tekanan osmosis ialah tekanan difusi melintasi membran semipermeabel (yang memisahkan) dua macam larutan dengan konsentrasi zat terlarut yang berbeda. Proses ini cenderung untuk menyamakan konsentrasi zat terlarut pada kedua sisi

membran tersebut. Jadi sel itu akan terhidrasi, efeknya serupa seperti mengeringkan sel, proses ini dikenal dengan nama plasmolisis. Pada sel hewan yang tidak mempunyai dinding yang kaku, dapat teramati penyusutan sel yang sesungguhnya sebagai akibat plasmolisis. Bila bakteri ditempatkan di dalam larutan yang mengandung natrium klorida jauh di bawah 1%, atau sekitar 0,01% maka arah aliran air akan terbalik, yaitu air dari larutan akan mengalir menuju ke dalam sel. Proses demikian dinamakan plasmoptisis. Terbentuknya tekanan osmotik di dalam sel akibat akumulasi air dalam jumlah yang besar. Apabila membran sel itu elastik, seperti misalnya pada sel darah merah, maka tekanan ini akan mengakibatkan pembengkakan dan bahkan dapat menyebabkan pecahnya sel. Bakteri memiliki dinding sel yang kaku yang dapat menahan perubahan tekanan osmotik, sehingga biasanya tidak menunjukkan perubahan bentuk ataupun ukuran yang menyolok bila terjadi plasmolisis atau plasmoptisis.

RANGKUMAN

Untuk dapat mempelajari karakteristik bakteri, maka kita harus dapat menumbuhkannya dalam bentuk biakan murni. Untuk menumbuhkan bakteri tersebut diperlukan pemilihan medium yang sesuai serta kondisi lingkungan yang optimum bagi pertumbuhannya.

Bakteri dapat tumbuh pada medium yang sesuai dengan pertumbuhan yang mengikuti suatu kurva pertumbuhan (kurva sigmoid) sampai ketersediaan nutrisi dalam medium habis terpakai. Kurva pertumbuhan bakteri menggambarkan siklus pertumbuhan jumlah sel bakteri dimulai dengan fase adaptasi, diikuti pertumbuhan yang cepat sebagai fase logaritmik (eksponensial) sehingga jumlahnya dua kali lipat, kemudian fase stasioner dan fase kematian sel.

Siklus bakteri menggambarkan perubahan bentuk sel bakteri dalam kondisi yang tidak cocok dengan membentuk endospora (sporulasi). Beberapa tipe bakteri dapat membentuk endospora untuk waktu yang lama dan tahan terhadap gangguan fisik lingkungan dan akan tumbuh kembali jika berada dalam medium dan lingkungan yang sesuai.

PERTANYAAN DAN TUGAS

1. Bagaimanakah persyaratan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri ? Unsur-unsur apakah yang dibutuhkannya ? Apa fungsi setiap unsur tersebut ?
2. Bagaimanakah klasifikasi medium pertumbuhan bakteri ? Berikan beberapa contoh medium pertumbuhan bakteri ?
3. Jelaskan istilah berikut::
 - a. litotrof (kemoautotrof)
 - b. heterotrof (kemoheterotrof)
 - c. aerob obligat
 - d. anaerob obligat
 - e. anaerob fakultatif
4. Bagaimanakah pengaruh temperatur dan pH terhadap pertumbuhan bakteri ?
5. Apa yang dimaksud dengan pertumbuhan sel bakteri dan pertumbuhan populasi bakteri ? Bagaimanakah kita mengukur pertumbuhan bakteri tersebut?
6. Suatu bakteri memiliki waktu generasi selama 30 menit. Jika terdapat 20 sel pada awal pertumbuhan, berapakah jumlah sel setelah diinkubasi selama 5 jam ?
7. Jelaskan pengendalian pertumbuhan bakteri:
 - a. secara kimia
 - b. secara fisik

ISTILAH PENTING

- litotrof (kemoautotrof)
- heterotrof (kemoheterotrof)
- fotoautotrof
- aerob obligat
- anaerob obligat
- anaerob fakultatif

- sterilisasi
- disinfeksi
- Pasteurisasi