

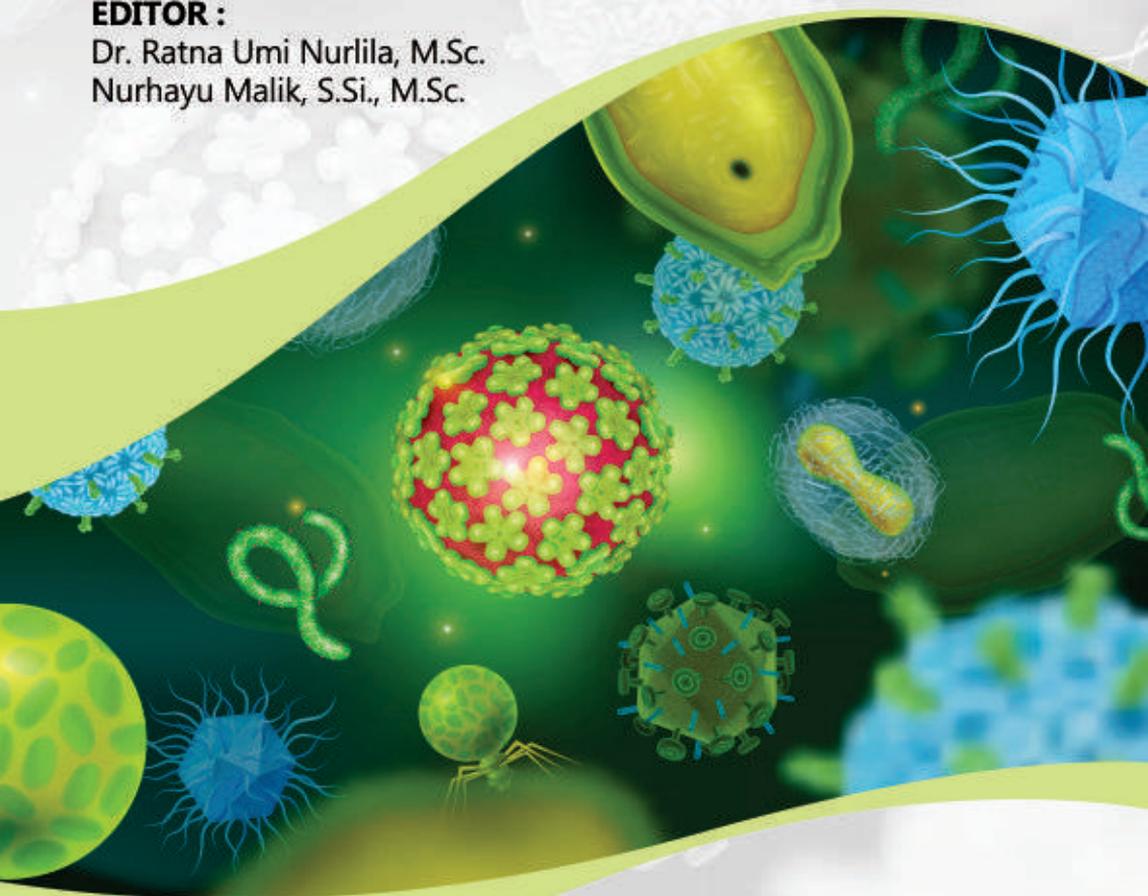


# Pengantar MIKROBIOLOGI

**EDITOR :**

Dr. Ratna Umi Nurlila, M.Sc.

Nurhayu Malik, S.Si., M.Sc.



Najmah | Asriyani Ridwan | Tacik Idayanti  
Emelda | Ni Made Sri Dwijastuti | Dwi Setianingtyas  
Syandrez Prima Putra | Dwi Krihariyani | Aini | Kristanti Parisihni

# Pengantar MIKROBIOLOGI

Buku Pengantar Mikrobiologi yang berada ditangan pembaca ini terdiri dari 10 bab, yaitu :

- Bab 1 Klasifikasi Mikroba : Morfologi, Reproduksi, Fisiologi
- Bab 2 Prinsip-Prinsip Sterilisasi Medium dan Teknik Isolasi Bakteri
- Bab 3 Pengaruh Lingkungan terhadap Pertumbuhan Mikroba
- Bab 4 Teknik Laboratorium Mikrobiologi
- Bab 5 Teknik Mikroskopi
- Bab 6 Mekanisme Infeksi Virus
- Bab 7 Prinsip Prinsip Immunologi
- Bab 8 Flora Normal pada Tubuh Manusia
- Bab 9 Prinsip Pengujian Kualitas Air
- Bab 10 Daya Antibakteri Beberapa Antiseptik



**eureka**  
media aksara  
Anggota IKAPI  
No. 225/UTE/2021

☎ 0858 5343 1992  
✉ eurekaediaaksara@gmail.com  
📍 Jl. Banjaran RT.20 RW.10  
Bojongsari - Purbalingga 53362

ISBN 978-623-120-239-0



# PENGANTAR MIKROBIOLOGI

Najmah, M.Si.

Asriyani Ridwan, S.ST., M.Biomed.

Tacik Idayanti, S. ST, S. Si.

apt. Emelda, M.Farm.

Ni Made Sri Dwijastuti, S.Si., M.Biomed.

Dwi Setianingtyas., drg., Sp PM (K)

dr. Syandrez Prima Putra, M.Sc.

Dr. Dwi Krihariyani, S.Pd., S.Si., M.Kes.

Aini, Amd, Kes., S.Si., M.Si.

Dr. Kristanti Parisihni, drg., M.Kes.



**eureka**  
**media aksara**

**PENERBIT CV.EUREKA MEDIA AKSARA**

## PENGANTAR MIKROBIOLOGI

**Penulis** : Najmah, M.Si.  
Asriyani Ridwan, S.ST., M.Biomed.  
Tacik Idayanti, S. ST, S. Si.  
apt. Emelda, M.Farm.  
Ni Made Sri Dwijastuti, S.Si., M.Biomed.  
Dwi Setianingtyas., drg., Sp PM (K)  
dr. Syandrez Prima Putra, M.Sc.  
Dr. Dwi Krihariyani, S.Pd., S.Si., M.Kes.  
Aini, Amd, Kes., S.Si., M.Si.  
Dr. Kristanti Parisihni, drg., M.Kes.

**Editor** : Dr. Ratna Umi Nurlila, M.Sc.  
Nurhayu Malik, S.Si., M.Sc.

**Desain Sampul** : Eri Setiawan

**Tata Letak** : Husnun Nur Afifah

**ISBN** : 978-623-120-239-0

Diterbitkan oleh : EUREKA MEDIA AKSARA, FEBRUARI 2024  
ANGGOTA IKAPI JAWA TENGAH  
NO. 225/JTE/2021

### **Redaksi:**

Jalan Banjaran, Desa Banjaran RT 20 RW 10 Kecamatan Bojongsari  
Kabupaten Purbalingga Telp. 0858-5343-1992

Surel : eurekamediaaksara@gmail.com

Cetakan Pertama : 2024

### **All right reserved**

Hak Cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya tanpa seizin tertulis dari penerbit.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, kami panjatkan rasa syukur kepada Allah SWT sehingga buku kolaborasi “Pengantar Mikrobiologi” ini dapat diselesaikan dengan baik dan semoga bernilai ibadah disisinya, Aamiin. Ucapan terima kasih kami haturkan kepada berbagai pihak yang membantu proses penyelesaian buku ini. Semoga buku ini membuka cakrawala baru dan menginspirasi keingintahuan anda terhadap mikrobiologi.

Selamat datang dalam perjalanan menakjubkan ke dunia mikrobiologi! Buku ini hadir sebagai panduan yang memperkenalkan anda pada berbagai kehidupan mikroskopis yang mendominasi dunia ini. Mikroorganisme, meskipun seringkali terlupakan, memainkan peran kritis dalam ekosistem, kesehatan manusia, dan bahkan industri. Selamat membaca dan mengeksplorasi keajaiban mikroorganisme

Buku Pengantar Mikrobiologi yang berada ditangan pembaca ini terdiri dari 10 bab, yaitu :

- Bab 1 Klasifikasi Mikroba : Morfologi, Reproduksi, Fisiologi
- Bab 2 Prinsip-Prinsip Sterilisasi Medium dan Teknik Isolasi Bakteri
- Bab 3 Pengaruh Lingkungan Terhadap Pertumbuhan Mikroba
- Bab 4 Teknik Laboratorium Mikrobiologi
- Bab 5 Teknik Mikroskopi
- Bab 6 Mekanisme Infeksi Virus
- Bab 7 Prinsip Prinsip Immunologi
- Bab 8 Flora Normal Pada Tubuh Manusia
- Bab 9 Prinsip Pengujian Kualitas
- Bab 10 Daya Antibakteri Beberapa Antiseptik

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan dalam penulisan buku ini maka itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari para pembaca demi kesempurnaan edisi berikutnya. Terima kasih kepada semua pihak yang telah berperan dalam perjalanan pembuatan buku ini.

Gorontalo, 06 Januari 2024

Tim Penulis

## DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>ix</b>
<b>BAB 1 KLASIFIKASI MIKROBA: MORFOLOGI, REPRODUKSI DAN FISILOGI .....</b>	<b>1</b>
A. Pendahuluan.....	1
B. Klasifikasi Mikroba .....	2
C. Morfologi, Reproduksi dan Fisiologi.....	5
DAFTAR PUSTAKA.....	15
<b>BAB 2 PRINSIP-PRINSIP STERILISASI MEDIUM DAN TEKNIK ISOLASI BAKTERI.....</b>	<b>17</b>
A. Pendahuluan.....	17
B. Macam-Macam Metode Sterilisasi .....	18
C. Sterilisasi Medium.....	21
D. Teknik Isolasi Bakteri .....	23
DAFTAR PUSTAKA .....	30
<b>BAB 3 PENGARUH LINGKUNGAN TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA.....</b>	<b>32</b>
A. Pendahuluan.....	32
B. Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme .....	32
DAFTAR PUSTAKA .....	45
<b>BAB 4 TEKNIK LABORATORIUM MIKROBIOLOGI .....</b>	<b>47</b>
A. Prinsip Pengerjaan Laboratorium Mikrobiologi.....	47
B. Peralatan Pendukung dalam Laboratorium Mikrobiologi .....	48
C. Transfer Mikroorganisme .....	52
D. Media Pertumbuhan Mikroba.....	53
E. Teknik Penanaman Mikroba .....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	59
<b>BAB 5 TEKNIK MIKROSKOPI.....</b>	<b>60</b>
A. Sejarah Penggunaan Mikroskop .....	60
B. Jenis-Jenis Mikroskop.....	62
C. Komponen Mikroskop Cahaya .....	66

D. Prosedur Penggunaan Mikroskop Cahaya .....	71
E. Perawatan Mikroskop Cahaya.....	76
F. Prosedur Kalibrasi Mikroskop Cahaya .....	78
DAFTAR PUSTAKA .....	82
<b>BAB 6 MEKANISME INFEKSI VIRUS.....</b>	<b>83</b>
A. Pendahuluan .....	83
B. Sekilas Tentang Virus .....	84
C. Mekanisme Infeksi Virus.....	86
DAFTAR PUSTAKA .....	101
<b>BAB 7 PRINSIP-PRINSIP IMUNOLOGI .....</b>	<b>102</b>
A. Pendahuluan .....	102
B. Komponen Sistem Imun.....	103
C. Imunitas Alamiah .....	114
D. Imunitas Adaptif.....	121
DAFTAR PUSTAKA .....	129
<b>BAB 8 FLORA NORMAL PADA TUBUH MANUSIA .....</b>	<b>130</b>
A. Pendahuluan .....	130
B. Mikrobiologi Flora Normal.....	132
C. Peran Flora Normal .....	134
DAFTAR PUSTAKA .....	140
<b>BAB 9 PRINSIP PENGUJIAN KUALITAS AIR.....</b>	<b>141</b>
A. Pendahuluan .....	141
B. Metode Pengambilan Sampel .....	142
C. Jenis Mikroba Indikator.....	143
D. Metode Analisis .....	144
E. Cara Kerja Analisis .....	147
F. Kendali Mutu Pengujian Mikrobiologi.....	148
G. Validasi dan Kontrol Mutu .....	149
DAFTAR PUSTAKA .....	151
<b>BAB 10 DAYA ANTIBAKTERI BEBERAPA ANTISEPTIK .....</b>	<b>153</b>
A. Prinsip Dasar Kontrol Mikroba .....	153
B. Mekanisme Umum Cara Kerja Biosida.....	154
C. Berbagai Antiseptik : Cara Kerja dan Kegunaannya .	158
D. Hubungan Konsentrasi Biosida dan Waktu pada Pemusnahan Antimikroba .....	163
E. Mekanisme Reversal Aksi Biosida .....	164

DAFTAR PUSTAKA.....	166
TENTANG PENULIS.....	167

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. 1.	Klasifikasi Mikroba.....	4
Gambar 1. 2.	Reproduksi Bakteri Secara Konjugasi pada <i>E. Coli</i> .....	6
Gambar 1. 3.	Reproduksi Aseksual dan Seksual Pada Kapang	10
Gambar 1. 4.	Reproduksi pada Virus Secara Litik dan Lisogenik .....	13
Gambar 2. 1.	<i>Pour Plate Method</i> .....	25
Gambar 2. 2.	<i>Spread Plate Method</i> .....	25
Gambar 2. 3.	<i>Streak Plate Method</i> .....	26
Gambar 2. 4.	Tipe Goresan Sinambung.....	27
Gambar 2. 5.	Tipe Goresan T .....	27
Gambar 2. 6.	Tipe Goresan Kuadran .....	28
Gambar 2. 7.	Teknik Serial Dilution.....	29
Gambar 3. 1.	Interaksi Polimikroba .....	35
Gambar 3. 2.	Penggolongan Suhu Pertumbuhan Mikroba Berdasarkan Suhu Optimumnya yaitu Titik Tempat Laju Pertumbuhan Paling Tinggi .....	37
Gambar 3. 3.	Kurva Arrhenius untuk Pertumbuhan Bakteri ....	38
Gambar 3. 4.	Mikroba Berdasarkan Kebutuhan Oksigen (O <sub>2</sub> )..	40
Gambar 3. 5.	Larutan Hipotonik dan Hipertonik.....	41
Gambar 4. 1.	Contoh Alat Laboratorium Mikrobiologi	49
Gambar 4. 2.	Teknik Aseptik pada Praktikum Mikrobiologi ....	52
Gambar 4. 3.	Transfer Mikroorganisme dengan Metode Streak (a-c); Metode zig-zag (d) .....	53
Gambar 4. 4.	Perbedaan Metode <i>Pour Plate</i> dan <i>Spread Plate</i> ....	55
Gambar 4. 5.	Goresan dengan Metode <i>Streak Plate</i> .....	57
Gambar 4. 6.	Metode Streak Plate dengan Kontinyu (a); Kuadran (b); Streak T(c) .....	57
Gambar 4. 7.	Perhitungan Koloni CFU/ml.....	58
Gambar 4. 8.	Metode <i>Pour Plate</i> .....	58
Gambar 5. 1.	<i>E. Coli</i> dilihat dengan Mikroskop Elektron .....	63
Gambar 5. 2.	<i>M. Tuberculosis</i> dilihat dengan Mikroskop Fluorescent .....	64

Gambar 5. 3.	Tampilan Objek dengan Mikroskop Medan Gelap dan Fase Kontras .....	65
Gambar 5. 4.	Bagian-Bagian <i>Brightfield Microscope</i> .....	67
Gambar 5. 5.	Memasang Slide pada Meja Preparat .....	71
Gambar 5. 6.	Membersihkan Lensa Okuler .....	78
Gambar 5. 7.	Kalibrasi Mikrometer Okuler .....	80
Gambar 6. 1.	Konstruksi Virus Tidak Berselubung/ <i>Non Enveloped Virus</i> .....	85
Gambar 6. 2.	Konstruksi Virus Berselubung/ <i>Enveloped Virus</i> .....	85
Gambar 6. 3.	Portal of entry yang digunakan Virus untuk Memasuki Tubuh .....	86
Gambar 7. 1.	Perkembangan Sel Pluripoten menjadi Sel-Sel Darah Jalur Limfoid (Biru) dan Myeloid (Merah).....	105
Gambar 7. 2.	Leukosit Tipe Limfoid: (a) Limfosit, (b) Sel NK ..	108
Gambar 7. 3.	Granulosit: (a) Neutrofil, (b) Eosinofil, (c) Basofil ..	109
Gambar 7. 4.	(a) Makrofag, (b) Sel Mast, (c) Sel Dendritik.....	111
Gambar 7. 5.	Struktur antibodi berbentuk “Y”: rantai ringan (kuning), rantai berat (hijau), regio V (merah), regio C (biru). Perhatikan bahwa setiap regio memiliki bagian dari rantai ringan (VL, CL) dan rantai berat (CH1, CH2, CH3). .....	113
Gambar 7. 6.	Jenis-Jenis Imunoglobulin ditentukan oleh Struktur Fc dari Antibodi .....	113
Gambar 7. 7.	Struktur Khas pada IgA (Dimer) dan IgM (Pentamer).....	114
Gambar 7. 8.	Reseptor pada Makrofag .....	116
Gambar 7. 9.	Proses Inflamasi.....	118
Gambar 7. 10.	Fagositosis.....	119
Gambar 7. 11.	Pengenalan Antigen Oleh Sel T .....	122
Gambar 7. 12.	Aktivitas Sel T Efektor .....	124
Gambar 7. 13.	Aktivasi Sel B oleh sel TFH .....	126
Gambar 7. 14.	Mekanisme Imunitas Antibodi .....	128

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	Macam-Macam Interaksi pada Mikroba .....	34
Tabel 3.2.	pH Terendah, Optimal, dan Tertinggi untuk Beberapa Jenis Bakteri .....	43
Tabel 7.1.	Komplemen dan Fungsinya. ....	111
Tabel 8.1.	Bakteri Flora Normal .....	133
Tabel 8.2.	Penyakit yang Disebabkan oleh Flora Normal .....	138
Tabel 10.1.	Ekspose Konsentrasi Berbagai Antiseptik.....	164
Tabel 10.2.	Mekanisme Reversal yang dapat Membalikkan Aktivitas Biosida .....	165



## PENGANTAR MIKROBIOLOGI

Najmah, M.Si.

Asriyani Ridwan, S.ST., M.Biomed.

Tacik Idayanti, S. ST, S. Si.

apt. Emelda, M.Farm.

Ni Made Sri Dwijastuti, S.Si., M.Biomed.

Dwi Setianingtyas., drg., Sp PM (K)

dr. Syandrez Prima Putra, M.Sc.

Dr. Dwi Krihariyani, S.Pd., S.Si., M.Kes.

Aini, Amd, Kes., S.Si., M.Si.

Dr. Kristanti Parisihni, drg., M.Kes.



# BAB

# 1

## KLASIFIKASI MIKROBA: MORFOLOGI, REPRODUKSI DAN FISIOLOGI

Najmah, M.Si.

### A. Pendahuluan

Mikrobiologi mempelajari mikroba atau dikenal dengan istilah mikroorganisme. membuka pintu ke dunia kecil yang penuh dengan kehidupan yang tidak terlihat oleh mata manusia tanpa bantuan mikroskop. Meskipun mikroorganisme adalah bentuk kehidupan terkecil, secara kolektif mereka merupakan bagian terbesar dari biomassa di bumi dan melakukan banyak reaksi kimia yang diperlukan untuk organisme yang lebih tinggi. Tanpa adanya mikroorganisme, bentuk kehidupan yang lebih tinggi tidak akan pernah berevolusi dan tidak dapat dipertahankan (Tortora, Funke and Case, 2010).

Kita sering melabeli mikroorganisme menyangkut penyakit, infeksi yang membuat tidak nyaman, atau ketidaknyamanan yang biasa terjadi seperti makanan basi. Namun, sebagian besar mikroorganisme memberikan kontribusi penting dengan membantu menjaga keseimbangan organisme hidup dan bahan kimia di lingkungan kita. Manusia dan banyak hewan lainnya bergantung pada mikroba dalam usus mereka untuk pencernaan. Industri makanan juga menggunakan mikroba untuk memproduksi cuka, asinan kubis, acar, minuman beralkohol, zaitun hijau, kecap, susu mentega, keju, yogurt, dan roti. Selain itu, enzim dari mikroba sekarang dapat dimanipulasi untuk menyebabkan mikroba menghasilkan zat yang biasanya tidak mereka sintesis. Zat-zat ini termasuk selulosa, alat bantu

pencernaan, dan pembersih saluran pembuangan, serta zat-zat terapeutik yang penting seperti insulin, dan sintesis beberapa vitamin (Trivedi, Pandey and Bhadauria, 2010).

Sejak ditemukannya mikroskop oleh Anton van Leeuwenhoek pada abad ke-17, manusia memasuki era penemuan yang mengubah paradigma tentang kehidupan mikroskopis. Pemahaman tentang mikroorganisme telah berkembang pesat, terutama dalam konteks kesehatan, teknologi pangan, dan industri farmasi. Seiring berjalannya waktu, mikrobiologi telah menjadi landasan bagi penemuan-penemuan revolusioner, seperti vaksin, antibiotik, dan teknologi rekayasa genetika (Tortora, Funke and Case, 2010; Rini and Rochman, 2020).

Pentingnya mikrobiologi juga dapat dilihat dalam kontribusinya terhadap pemahaman lebih lanjut tentang proses-proses biokimia, ekologi mikroba, dan peran mikroorganisme dalam siklus nutrisi dan dekomposisi. Dalam era modern ini, studi mikrobiologi tidak hanya menjadi kajian ilmiah, tetapi juga menjadi kunci bagi inovasi di berbagai sektor, termasuk bioteknologi, bioinformatika, dan penelitian obat-obatan.

Dengan memahami mikrobiologi, kita dapat memahami lebih baik bagaimana kehidupan mikroba mempengaruhi dunia di sekitar kita. Dengan teknologi dan pendekatan baru, mikrobiologi terus berkembang dan memberikan kontribusi besar terhadap peradaban manusia. Pemahaman mengenai mikroorganisme akan menjelajahi dunia kecil yang memiliki dampak besar, membuka jendela menuju keajaiban kehidupan mikroskopis yang secara tak terlihat menjadi penggerak penting dalam berbagai aspek kehidupan.

## **B. Klasifikasi Mikroba**

Mikrobiologi adalah ilmu yang mempelajari tentang mikroorganisme yang merupakan organisme yang berdimensi mikroskopis. Namun, seberapa kecilkah mereka? Umumnya, beberapa jenis mikroskop diperlukan untuk melihat mereka. Organisme ini terlalu kecil untuk dapat dilihat dengan jelas oleh

mata manusia. Organisme dengan diameter 1 mm atau kurang adalah mikroorganisme dan termasuk dalam domain mikrobiologi yang luas. Karena sebagian besar mikroorganisme hanya berukuran beberapa ribu mm, mereka hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop (Trivedi, Pandey and Bhadauria, 2010; Kumar, 2012).

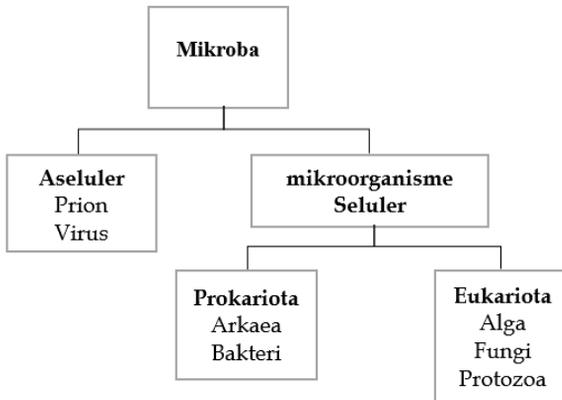
Meskipun saat ini diketahui lebih banyak tentang kehidupan mikroba daripada sebelumnya, sebagian besar dunia tak terlihat ini tetap belum dijelajahi. Sebagian besar mikroba adalah sel tunggal dan cukup kecil sehingga memerlukan pembesaran buatan untuk dapat terlihat. Namun, ada beberapa mikroba sel tunggal yang dapat terlihat dengan mata telanjang, dan beberapa organisme multiseluler yang berskala mikroskopis. Suatu objek harus memiliki panjang sekitar 100 mikrometer ( $\mu\text{m}$ ) untuk dapat terlihat tanpa mikroskop, tetapi sebagian besar mikroorganisme jauh lebih kecil dari itu. Sebagai gambaran, pertimbangkan bahwa sel hewan yang tipikal memiliki diameter sekitar 10  $\mu\text{m}$  tetapi masih dianggap mikroskopis. Sel bakteri biasanya sekitar 1  $\mu\text{m}$ , dan virus bisa sepuluh kali lebih kecil dari bakteri

Penting untuk dipahami bahwa virus standar memiliki dimensi sekitar 100 nm, membuatnya 10 kali lebih kecil daripada bakteri umum dengan ukuran sekitar 1  $\mu\text{m}$ . pada gambar 1, virus influenza memiliki diameter sekitar 100 nanometer (nm). Ada 1000 nanometer dalam setiap mikrometer, jadi itu menunjukkan mengapa membutuhkan mikroskop yang lebih kuat untuk melihat virus. Sedangkan bakteri setidaknya 10 kali lebih kecil dari sel tumbuhan atau hewan biasa, yang umumnya memiliki ukuran antara 10 hingga 100  $\mu\text{m}$ . Suatu objek harus memiliki dimensi sekitar 100  $\mu\text{m}$  agar dapat terlihat tanpa bantuan mikroskop.

Klasifikasi adalah pengorganisasian organisme yang memiliki ciri morfologis, fisiologis, dan genetik yang serupa ke dalam kelompok atau takson tertentu. Nomenklatur, penamaan mikroorganisme sesuai dengan aturan dan pedoman yang telah ditetapkan, memberikan label yang diterima secara universal.

Klasifikasi mikroba fokus pada pembahasan ini didasarkan pada morfologi, reproduksi dan fisiologi.

Klasifikasi mikroba terdapat dua kategori utama mikroba: mikroba aseluler (disebut juga partikel infeksius) dan mikroba seluler (disebut juga mikroorganisme). Mikroba aseluler (juga dikenal sebagai partikel infeksius) termasuk prion dan virus. Mikroba seluler termasuk prokariota yang tidak terlalu kompleks (organisme yang terdiri dari sel-sel yang tidak memiliki inti sejati, seperti archaea dan bakteri) dan eukariota yang lebih kompleks (organisme yang terdiri dari sel-sel yang mengandung inti sejati, seperti ganggang, protozoa, dan jamur. (Trivedi, Pandey and Bhadauria, 2010; Engelkirk and Engelkirk, 2011). Klasifikasi mikroba dapat dilihat pada gambar 1.1.



Gambar 1. 1. Klasifikasi Mikroba

Ilmuwan sebagian besar tidak menganggap virus sebagai organisme hidup, mereka sering disebut sebagai "mikroba aseluler" atau "partikel infeksius" daripada mikroorganisme.

Mikroba arkaea dan bakteri memiliki tipe sel prokariotik dan memiliki metabolisme paling bervariasi. Istilah "prokariotik" berasal dari kata Yunani "pro" (sebelum) dan "karyon" (benih/inti/nukleus), yang berarti sel prokariotik adalah sel yang tidak memiliki inti sejati atau nukleusnya tidak diselubungi membran) sehingga DNA tidak terpisah dari bagian lain sel, dan area di mana DNA terkonsentrasi dalam sitoplasma disebut nukleoid. Sedangkan tipe sel eukariotik seperti pada

alga, jamur dan protozoa jauh lebih kompleks. Sel ini ditandai dengan adanya nukleus dan organel berlapis membrane, sel eukariotik dapat dijelaskan sebagai sel yang memiliki nukleus, berasal dari akar kata Yunani "eu-" yang berarti "sejati" dan "karyon" yang berarti "inti" atau "biji". Pembahasan lebih lanjut mengenai morfologi, reproduksi dan fisiologi untuk aseluler fokus pada virus, mikroba prokariota fokus pada bakteri sedangkan mikroba eukariota pada fungi.

## **C. Morfologi, Reproduksi dan Fisiologi**

### **1. Bakteri**

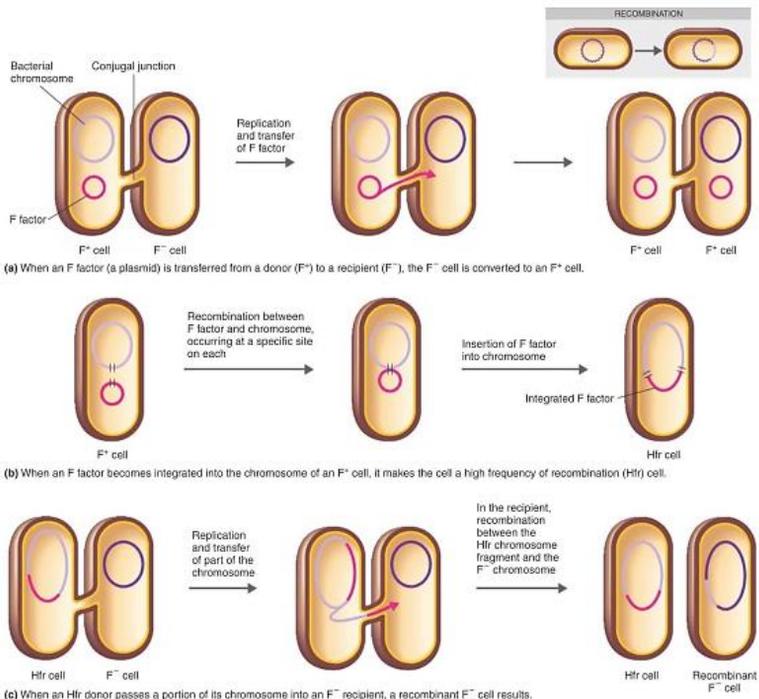
Bakteri (tunggal: bacterium) adalah mikroorganisme uniseluler sederhana yang memiliki sel prokariotik (bahasa Yunani: prenukleus) karena materi genetiknya tidak diselimuti oleh membran apa pun. Bakteri ditemukan di hampir setiap habitat di bumi, termasuk di dalam dan di tubuh manusia. Kebanyakan bakteri tidak berbahaya atau bermanfaat, namun ada pula yang bersifat patogen, menyebabkan penyakit pada manusia dan hewan lainnya. Hampir semua bakteri memiliki dinding sel yang mengandung peptidoglikan (Sharma, Gupta and Yadav, 2022).

Bakteri memiliki morfologi yang bervariasi tergantung dari jenisnya dan juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Secara umum morfologi bakteri ditinjau dari: bentuk, ukuran, distribusi, struktur tambahan, pewarnaan gram, spora, gerakan. Secara umum bentuk-bentuk bakteri termasuk bulat (coccus), berbentuk batang (bacillus), atau melengkung (spirillum, spirochete, atau vibrio).

Bakteri berkembang biak melalui aseksual yang melibatkan pembelahan biner. Bakteri bereproduksi dengan cara membelah diri secara biner atau dikenal dengan secara vegetatif. Setiap 20 menit bakteri dapat melakukan pembelahan diri apabila lingkungannya mendukung atau baik. Pembelahan diri secara biner dikenal dengan pembelahan secara langsung yang tidak melalui tahapan

mitosis dan setiap sel bakteri dapat membelah menjadi dua. Pada bakteri pembuahan secara seksual tidak dijumpai, namun terjadi pemindahan materi genetik tanpa menghasilkan zigot peristiwa ini disebut paraseksual. Pada proses paraseksual terdiri dari transformasi, konjugasi dan transduksi.

Transformasi: pada proses ini terjadi proses fisiologis yang kompleks yaitu perpindahan sedikit materi genetik antara sel bakteri. Konjugasi: pada proses ini antara filamen bakteri Bersatu untuk mempertukarkan atau menyumbangkan materi genetik. Pemindahan materi genetik ini membentuk jembatan. Transduksi: proses ini membutuhkan perantara bakteriofage untuk pemindahan materi genetik.



Gambar 1. 2. Reproduksi Bakteri Secara Konjugasi Pada *E. Coli*  
 Sumber: (Tortora, Funke and Case, 2010)

Gambar 1.2 menunjukkan reproduksi bakteri secara konjugasi, tahapan ini pertama sebuah sel bakteri (disebut sel donor atau sel F+) yang memiliki pilus seks melekat melalui pilus seks pada sel bakteri lain (disebut sel penerima atau sel F-). Sebagian materi genetik (biasanya berupa plasmid) kemudian ditransfer melalui pilus seks berongga dari sel donor ke sel penerima.

Pada poin (a) Ketika faktor F (plasmid) di-translokasi dari donor (F+) ke penerima (F-), sel F- diubah menjadi sel F+, poin (b) Ketika faktor F diintegrasikan ke dalam kromosom sel F+, hal ini membuat sel tersebut menjadi sel dengan frekuensi rekombinasi tinggi (Hfr), poin (c) Ketika donor Hfr meneruskan sebagian kromosomnya ke penerima F, maka akan dihasilkan sel F rekombinan (Tortora, Funke and Case, 2010). Meskipun konjugasi tidak ada hubungannya dengan reproduksi, proses ini kadang-kadang disebut sebagai "kawin bakteri," dan istilah "sel jantan" dan "sel betina" terkadang digunakan mengacu pada sel donor dan sel penerima, masing-masing. Tipe rekombinasi genetik ini terutama terjadi di antara spesies bakteri enterik, bacilli Gram-negatif, tetapi juga dilaporkan terjadi pada spesies *Pseudomonas* dan *Streptococcus*. Dalam mikroskop elektron, para mikrobiolog telah mengamati bahwa pilus seks lebih tebal dan lebih panjang dibandingkan dengan pilus lainnya.

Kebutuhan akan energi oleh bakteri melalui reaksi eksotermis -kemosintesis dan semuanya membutuhkan karbon sebagai sumbernya. Beberapa diantaranya autotrof dengan menggunakan CO<sub>2</sub>. Senyawa organik kompleks dapat dimanfaatkan beberapa patogen. Tetapi, hampir semuanya dapat bertahan hidup dengan menggunakan senyawa organik yang sederhana seperti glukosa. Untuk menghasilkan energi salah satunya melalui tahap glikolisis yaitu dengan jalur Embed Meyerhoff Parnas, dan dua lainnya melalui siklus asam sitrat dan fosforilasi oksidatif atau melalui jalur pentosa-fosfat (Amelia, 2023).

Beberapa bakteri tumbuh pada kondisi anaerobik dan aerobik. Aerob obligat tumbuh pada kondisi adanya oksigen sebagai akseptor elektron, dan anaerobik menghasilkan energi dari molekul seperti glukosa dalam kondisi tanpa oksigen melalui fermentasi (Purwoko, 2009).

## 2. Fungi

Fungi didefinisikan sebagai jamur dan berasal dari bahasa latin. Jamur terbagi dalam jamur makroskopis dan mikroskopis. Secara genetik jamur memiliki kerabat dekat dengan hewan namun, secara morfologi memiliki kemiripan dengan tanaman. Tersusun atas hifa struktur seperti benang, dan miselium kumpulan dari benang-benang (Lianah, 2021)

Kapang atau mold terdiri dari massa benang bercabang yang disebut miselium. Miselium terdiri dari hifa (serat) yang merupakan benang tunggal. Tubuh vegetatif jamur yang terdiri dari serat-serat disebut talus. Berdasarkan fungsinya, terdapat dua jenis hifa, yaitu hifa yang subur dan hifa vegetatif. Hifa subur adalah hifa yang dapat membentuk sel reproduksi atau spora. Jika hifa tumbuh keluar dari media disebut hifa udara. Hifa vegetatif adalah hifa yang berfungsi untuk menyerap makanan dari substrat (Ngatirah, 2017).

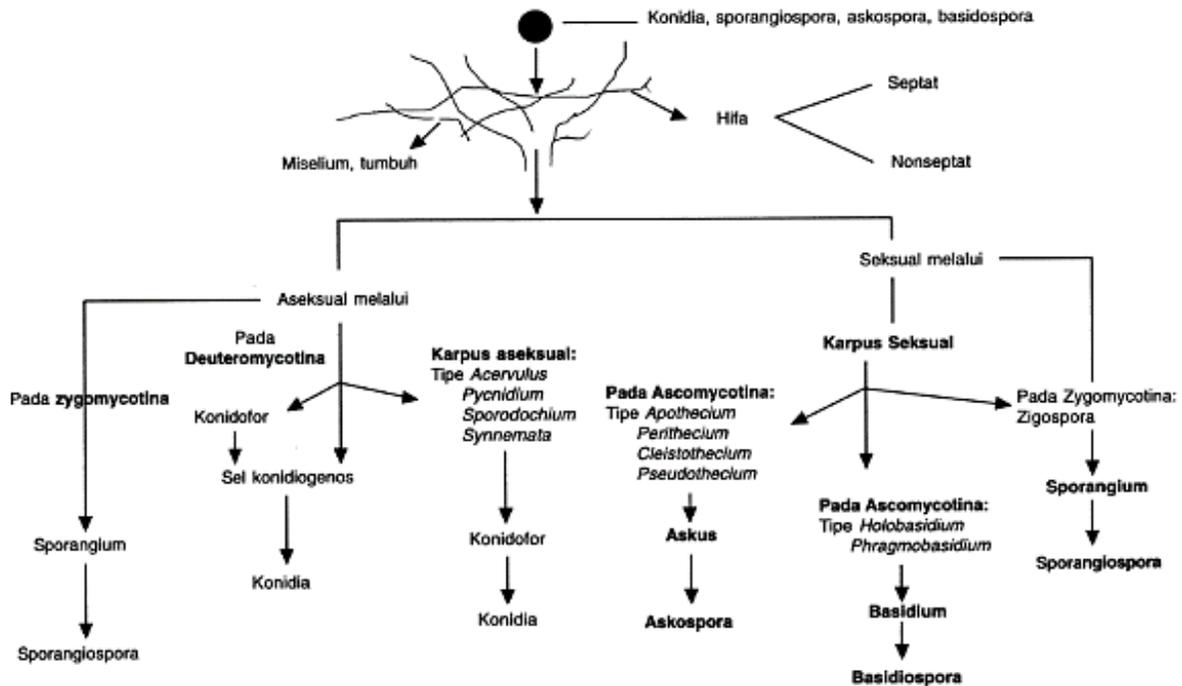
Berdasarkan bentuknya, hifa juga dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu hifa non-septat dan hifa berseptat. Hifa yang tidak berselaput adalah ciri khas jamur yang termasuk *Phycomycetes* (jamur tingkat rendah). Hifa ini merupakan sel yang memanjang, bercabang, terdiri dari sitoplasma dengan banyak inti (sinkositik). Hifa yang berselaput adalah ciri khas jamur tingkat lebih tinggi, atau yang termasuk *Eumycetes*.

Kelompok jamur ini terbagi menjadi kelompok yang uniseluler dikenal dengan khamir dan kelompok multiseluler dikenal dengan kapang. Sel ragi tidak membentuk miselium meskipun tergolong dalam fungi. Reproduksi dari ragi melalui aseksual dengan cara tunas sedangkan seksual dengan cara pembentukan spora.

Jamur melakukan reproduksi agar tidak punah dan spesiesnya bisa menyebar. Lingkungan menjadi salah satu faktor penentu struktur dari reproduksi. Baik secara fase anamorf (aseksual) dan fase teleomorf (seksual). Reproduksi aseksual dapat dilakukan dengan fragmentasi miselium (tallus) dan pembentukan spora aseksual. Ada 4 cara reproduksi dengan fragmentasi tallus, yaitu, (a) dengan pembentukan tunas, misalnya pada ragi, (b) dengan blastospora, yang merupakan tunas yang tumbuh menjadi spora, misalnya pada *Candida sp...*, (c) dengan arthrospora (oidium), yaitu terjadinya segmen pada ujung hifa, kemudian sel-sel dibulatkan dan akhirnya dilepaskan menjadi spora, misalnya pada *Geotrichum sp.*, dan (d) dengan khlamidospora, yaitu pembulatan dan penebalan dinding sel pada hifa vegetatif, misalnya pada *Geotrichum sp* (Apriyanto *et al.*, 2022) .

Spora aseksual terbentuk melalui dua cara yang berbeda. Pada fungi tingkat rendah, spora aseksual terbentuk sebagai hasil dari pembelahan inti yang berulang. Contohnya, spora yang terbentuk dalam sporangium disebut sporangiospora. Konidia terbentuk di ujung konidiophore, yang muncul dari ujung hifa atau dari konidia yang sudah terbentuk sebelumnya. Reproduksi seksual, dilakukan melalui pembentukan spora seksual dan peleburan gamet (sel seksual). Tipe kelamin sel seksual terdiri dari jantan (+) dan betina (-). Peleburan gamet terjadi antara dua jenis kelamin yang berbeda (Gandjar, 2006).

Reproduksi seksual terdiri dari (a) plasmogami, yaitu peleburan dua sel plasma, (b) karyogami, yaitu peleburan dua inti haploid yang menghasilkan satu inti diploid, dan (c) meiosis, yaitu pembelahan reduksi yang menghasilkan satu inti haploid. Bentuk dan cara reproduksi fungi sangat beragam, dan dapat digunakan sebagai dasar untuk mengklasifikasikan fungi tersebut (Apriyanto *et al.*, 2022). Gambaran reproduksi Kapang dapat dilihat pada gambar 1.3.



Gambar 1. 3. Reproduksi Aseksual dan Seksual Pada Kapang (Gandjar, 2006)

Kemampuan fungi dalam memanfaatkan nutrisi dari lingkungan dan metabolisme sangat bervariasi. Khamir dan kapang lebih tahan terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan dibandingkan mikroba lain. Khamir tumbuh pada kondisi adanya oksigen maupun tanpa oksigen atau sedikit oksigen. Sumber energi diperoleh dari senyawa karbon anorganik dan organik seperti CO<sub>2</sub> dan pemecahan karbohidrat. Umumnya jamur bersifat heterotrof. Energi dapat pula diperoleh dari pemecahan karbohidrat menjadi ATP. Beberapa jenis lainnya menggunakan nitrogen, urea.

### 3. Virus

Partikel virus atau “virion”, memiliki ukuran yang bervariasi dari skala nano hingga skala mikro. Mereka memiliki banyak bentuk yang berbeda dan tersusun atas protein, gula, asam nukleat, lipid, air, dan zat terlarut. Virion adalah entitas otonom dan mempengaruhi semua bentuk kehidupan dalam hubungan parasit. Mereka menginfeksi sel prokariotik dan eukariotik. Sifat fisik virion disesuaikan dengan cara mereka berinteraksi dengan sel. Ketika virion berinteraksi dengan sel, mereka menjadi sangat kompleks dan menimbulkan sel yang terinfeksi, yang juga dikenal sebagai virus (Greber, 2019).

Morfologi virus merujuk pada bentuk, ukuran, atau karakteristik eksternal virus. Ini dapat dikategorikan berdasarkan bentuk dan komponen strukturalnya. Ada beberapa jenis (Trivedi, Pandey and Bhadauria, 2010; Murtafi'ah, 2023):

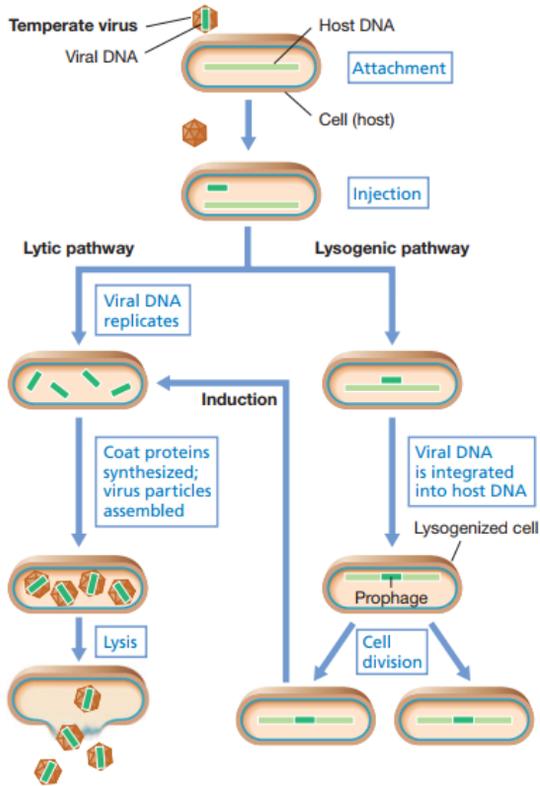
- a. Heliks: Morfologi virus heliks ditandai dengan susunan lingkaran unit protein di sekitar sumbu, membentuk bentuk batang filamen. Materi genetik terkandung dalam rongga atau terendam di dalam kapsid.
- b. Polihedral: Virus dengan morfologi polihedral terdiri dari banyak capsomere yang meliputi seluruh genom virus. Contohnya adalah adenovirus, yang memiliki struktur morfologi polihedral dengan berbagai capsomere. Asam

nukleat dalam virus polihedral tidak berikatan dengan protein kapsid.

- c. Bersampul: Virus bersampul memiliki lapisan luar yang melingkupi kapsid, disebut mantel. Morfologi virus bersampul ini bervariasi tergantung pada bentuk kapsidnya.
- d. Kompleks: Virus ini memiliki struktur yang lebih kompleks seperti bagian kepala dan ekor. Contoh virus ini yaitu bakteriofage

Reproduksi pada virus terjadi memerlukan sel inang dengan cara menginfeksi sel bakteri, hewan, tumbuhan dan manusia untuk mereplikasi dan berkembang biak. Virus menyusup ke dalam sel inang dan menggunakan mesin sel inang untuk membuat salinan dirinya.

Pada gambar 1.4, menunjukkan tahapan reproduksi virus melalui sel inang yaitu sel bakteri. Secara umum reproduksi pada tumbuhan maupun hewan mirip pada bakteriofag. Cara infeksi virus dapat berlangsung secara litik maupun lisogenik. Pada proses secara litik setelah melakukan reproduksi sel inang akan dihancurkan (lisis) sedangkan pada proses secara lisogenik virus berintegrasi dengan sel DNA bakteri sehingga ikut membelah.



Gambar 1. 4. Reproduksi pada Virus Secara Litik dan Lisogenik (Madigan *et al.*, 2012)

Selama siklus litik, fag menempel pada permukaan sel inang untuk menyuntikkan asam nukleatnya ke dalam sel, kemudian DNA sel inang terdegradasi, dan metabolisme sel inang diarahkan untuk memulai biosintesis fag. Asam nukleat fag bereplikasi di dalam bakteri. Dengan demikian, seluruh partikel fag virus dirakit, yang dilepaskan dari sel yang terinfeksi melalui lisis sel bakteri. Sebaliknya, siklus lisogenik didasarkan pada integrasi materi genetik fag ke dalam genom sel inang untuk menghasilkan fag (fag yang tidak aktif). Ketika bakteri bereproduksi, profag juga disalin dan diteruskan ke setiap sel anak. Sel anak dapat terus bereplikasi dengan profag, atau profag dapat keluar dari

kromosom bakteri untuk memulai siklus litik. Inisiasi infeksi fag dipicu oleh pengenalan spesifik antara protein pengikat fag yang terletak di ujung ekor atau selubung kapsid dan reseptor yang terletak di permukaan sel inang. Reseptor permukaan sel yang dikenali oleh fag dapat mencakup reseptor protein (OmpA dan OmpC), reseptor lipopolisakarida (LPS), reseptor yang terletak di kapsular polisakarida (Vi-antigen), dan pili dan flagela (Bräuer, 2021).

Mikroorganisme memiliki variasi yang berbeda-beda sesuai dengan pengklasifikasiannya namun, secara umum produksi energinya digolongkan dalam tahapan bagian berikut (Suryani, 2022):

1. Tanpa adanya oksigen (anaerob): glikolisis dan fermentasi
2. Adanya oksigen (aerob): rantai angkutan elektron, siklus asam sitrat, hasil energi dalam respirasi aerobik, katabolisme lipid, protein, respirasi beberapa bakteri secara anaerob
3. Secara fotosintesis, fosforilasi siklik dan nonsiklik dan mekanisme sintesis ATP.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amelia, R. (2023) 'Mikrobiologi Umum', in I. Wahidah (ed.) Sejarah dan Ruang Lingkup Mikrobiologi. Jakarta: PT. Scifintech Andrew Wijaya, pp. 1-197.
- Apriyanto, M. *et al.* (2022) Dasar Mikrobiologi Pangan. Banten: CV. AA. Rizky.
- Bräuer, N.W. (2021) 'Friends or Foes—Microbial Interactions in Nature', *Biology*, 10.
- Engelkirk, P.G. and Engelkirk, J.D. (2011) *Burton's Microbiology for the Health Sciences*. Ninth Edit. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Gandjar (2006) *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Greber, U.F. (2019) *Physical Virology: Virus Structure and Mechanics*. Edited by Urs. F Greber. Germany: Springer International Publishing.
- Kumar, S. (2012) *Textbook of Microbiology*. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Lianah (2021) *Dasar-Dasar Mikologi*. Semarang: Alinea Media Dipantara.
- Madigan, M.T. *et al.* (2012) *Brock Biology of Microorganisms*. 13th Edition. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- Murtafi'ah, N. (2023) *Virologi*. Edited by Oktavianis. Jakarta: Get Press Indonesia.
- Ngatirah (2017) *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Instiper Yogyakarta.
- Purwoko, T. (2009) *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Rini, C.S. and Rochman, J. (2020) *Bakteriologi Dasar*. Sidoarjo: UMSIDA Press.

- Sharma, A.K., Gupta, G.K. and Yadav, M. (eds) (2022) Medical Microbiology. Germany: Walter De Gruyter.
- Suryani, Y. (2022) Fisiologi Mikroorganisme. Bandung: Gunung Djati Publishin.
- Tortora, G.J., Funke, B.R. and Case, C.L. (2010) Microbiology an Introduction. 10th Edition. San Francisco: Benjamin Cummings.
- Trivedi, P.C., Pandey, S. and Bhadauria, S. (2010) Text Book Of Microbiology. Jaipur: Aavishkar Publisher.

# BAB 2 | PRINSIP-PRINSIP STERILISASI MEDIUM DAN TEKNIK ISOLASI BAKTERI

Asriyani Ridwan, S.ST., M. Biomed.

## A. Pendahuluan

Sterilisasi yaitu proses menghilangkan mikroorganisme yang tidak diinginkan, baik yang bersifat patogen maupun non-patogen, pada suatu benda seperti peralatan, bahan, dan media. Sterilisasi juga dapat didefinisikan sebagai penghilangan seluruh mikroorganisme baik bentuk vegetatif maupun bentuk spora (Akbar, 2021).

Di laboratorium mikrobiologi, sterilisasi sangat bermanfaat untuk menghindari hasil positif palsu. Sebelum melaksanakan praktek mikrobiologi, sterilisasi instrumen dan bahan membantu memperoleh hasil yang akurat terhadap pemeriksaan mikrobiologi (Rakhmawati, 2012).

Mikroorganisme yang mengakibatkan kontaminasi terkadang bisa ditemui dalam jumlah besar di laboratorium mikrobiologi. Mikroorganisme penyebab kontaminasi bisa berasal dari udara, permukaan kerja, lantai, aktivitas manusia, atau perlengkapan yang digunakan. Sterilisasi instrumen dan perlengkapan diperlukan untuk mencegah kontaminasi (Akbar, 2021).

Berdasarkan peralatan yang digunakan, ada berbagai prinsip sterilisasi. Seperti, prinsip pemanasan, paparan sinar UV, dan penggunaan disinfektan. Mematikan mikroorganisme dan sporanya yang dapat mengkontaminasi sampel yang diuji adalah tujuan utama dari proses sterilisasi (Akbar, 2021).

## **B. Macam-Macam Metode Sterilisasi**

Ada 3 metode sterilisasi yang bisa digunakan berdasarkan prinsip kerjanya, yaitu secara mekanik (filtrasi), fisik dan kimia.

### **1. Sterilisasi Mekanik atau Filtrasi**

Kertas saring berpori sangat kecil digunakan untuk menyaring mikroorganisme pada sterilisasi mekanik atau filtrasi. Sterilisasi jenis ini tidak tahan terhadap panas atau tekanan tinggi, dan bekerja sangat baik pada bahan cair.

### **2. Sterilisasi Fisik**

Tergantung pada metode dan peralatan yang digunakan, Sterilisasi fisik dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti Sterilisasi pemijaran, uap air panas, panas kering, uap air panas bertekanan, dan penyinaran sinar UV.

#### **a. Sterilisasi Pemijaran**

Sterilisasi pemijaran dilakukan dengan cara memanaskan peralatan di atas api Bunsen hingga memijar. Bertujuan untuk mencegah kontaminasi, metode ini kerap digunakan untuk mensterilkan mulut tabung reaksi, tepi cawan petri, ujung pinset, serta ujung jarum ose. Saat mensterilkan peralatan dengan metode ini harus mampu menahan panas serta tidak gampang rusak jika terkena api yang membara (Akbar, 2021).

#### **b. Sterilisasi Uap Air Panas**

Teknik sterilisasi ini disebut juga tindalisasi. Memanfaatkan uap air panas yang dihasilkan dari pemanasan air, metode sterilisasi ini berupaya untuk membasmi mikroba yang mengkontaminasi.

Pada metode ini pemanasan dengan uap dilakukan sebanyak 3 kali penguapan. Jeda waktu 24 jam diterapkan pada proses penguapan. Jeda waktu bertujuan untuk mencegah terbentuknya spora, sehingga dapat mematikan mikroorganisme kontaminan.

Bahan yang mudah rusak akibat suhu tinggi, seperti bahan berprotein dan antibiotik, dapat disterilkan dengan metode sterilisasi uap air panas. Kekurangan dari

teknik ini adalah tidak dapat mensterilkan spora mikroorganisme dalam satu sesi karena uap air panas yang dihasilkan hanya bersuhu 80–100°C (Akbar, 2021).

c. Sterilisasi Uap Air Panas Bertekanan

Uap air panas bertekanan tinggi digunakan dalam prosedur sterilisasi ini. Alat yang digunakan dalam proses sterilisasi ini adalah autoklaf. Dua faktor yang membuat uap air bertekanan lebih unggul untuk sterilisasi adalah tekanan dan uap panas. Panas dari uap panas diperkirakan lebih efektif dibandingkan panas dari oven dalam memanaskan seluruh permukaan alat, dan partikel uap air bertekanan cukup untuk membunuh spora bakteri.

Aplikasi utama teknik sterilisasi uap air panas bertekanan ini adalah sterilisasi media, cairan, dan peralatan laboratorium. Dengan menggunakan teknik ini, jenis peralatan laboratorium berikut dapat disterilkan:

- 1) Peralatan yang terbuat dari plastik berkualitas tinggi, seperti Tefzel, polytetrafluoroethylene (PTFE), polipropilen, polimetil pentena, dan polialomer.
- 2) Peralatan gelas, termasuk pipet, gelas kimia, dan botol kultur (Bhojwani, 2013).

Untuk mencapai suhu dan tekanan standar yang diperlukan untuk sterilisasi, lebih baik menggunakan autoklaf dengan suhu tinggi dalam waktu singkat daripada suhu rendah dalam jangka waktu lama. Tekanan dan suhu yang umum digunakan adalah 121 °C/15 psi, 132 °C/27 psi, dan 115 °C/10 psi (psi = pon per inci persegi). Meskipun demikian, 121°C/15 psi adalah suhu dan tekanan yang paling sering digunakan (Gupta, 2016).

Pada metode ini, waktu yang sering digunakan adalah 10 – 15 menit. Kondisi tersebut sangat efektif untuk membunuh bakteri dan spora jamur (Ikenganya, 2017).

#### d. Sterilisasi Panas Kering

Prinsip dasar metode sterilisasi panas kering adalah dengan menggunakan alat pemanas semacam oven untuk mensterilkan bahan pada suhu tinggi. Sepanjang sterilisasi, oven menghasilkan panas antara 160 dan 180 °C. Saat terkena suhu tinggi, sel bakteri, jamur, ataupun virus akan kehilangan cairan, mengalami dehidrasi, atau merusak proteinnya (Akbar, 2021).

Sterilisasi panas kering digunakan untuk peralatan yang tidak boleh basah serta dibuat dari bahan yang tidak mudah meleleh, terbakar, atau berubah bentuk ketika terkena suhu tinggi.

Barang-barang berikut ini dapat disterilkan dengan oven:

- 1) Peralatan gelas (seperti cawan petri, gelas ukur, beaker glass, pipet, dan tabung reaksi)
- 2) Bubuk (seperti pati, seng oksida, dan sulfadiazin)
- 3) Bahan yang mengandung minyak
- 4) Peralatan logam (seperti pisau bedah, gunting, dan pisau)

Selama beberapa jam, suhu yang sangat tinggi digunakan dalam sterilisasi panas kering dengan oven untuk mematikan mikroorganisme serta spora bakteri. Dengan memanaskan bagian luar suatu benda, yang kemudian menyerap panas dan memindahkannya ke tengah benda, oven menggunakan konduksi untuk mensterilkan benda.

Suhu dan waktu yang kerap digunakan untuk mensterilkan dengan oven yaitu 170°C selama 30 menit, 160°C selama 60 menit, dan 150°C selama 150 menit. Anda harus merencanakan terlebih dahulu dan memutuskan peralatan mana yang akan disterilkan dan kapan akan digunakan karena mensterilkan peralatan dalam oven membutuhkan waktu yang lama (Alkadhim, 2018).

#### e. Sterilisasi Penyinaran UV

Tujuan dari metode sterilisasi Penyinaran UV adalah memanfaatkan kemampuan sinar UV untuk menghancurkan mikroorganisme. Panjang gelombang sinar UV yang paling efektif mematikan bakteri, jamur, dan virus yaitu antara 185-254 nanometer (nm).

Sinar UV menghancurkan mikroorganisme dengan menembus membran sel serta menyebabkan kerusakan pada DNA dan RNA. Proses sintesis protein dalam sel akan terganggu dengan putusanya ikatan hidrogen pada DNA/RNA mikroorganisme (Akbar, 2021).

### 3. Sterilisasi Kimia

Menggunakan bahan kimia yang bersifat mikrobisida atau memiliki kemampuan untuk membunuh mikroorganisme adalah prinsip sterilisasi kimia. Bahan kimia yang digunakan dapat berupa antiseptik atau desinfektan tergantung pada tujuan penggunaannya.

Desinfektan dan antiseptik tersedia dalam berbagai jenis, termasuk triklosam, alkohol, formalin, karbol, hidrogen peroksida, serta iodine dll. Sterilisasi kimia tidak efektif untuk mensterilkan bahan ataupun media, sterilisasi ini hanya cocok untuk mensterilkan permukaan benda dan peralatan laboratorium (Akbar, 2021).

### C. Sterilisasi Medium

Dalam mikrobiologi, berbagai macam media digunakan. Seseorang dapat membeli media yang sudah dikemas ataupun membuatnya secara alami. Selain lebih murah, pembuatan media dengan bahan alami juga dapat mengantisipasi jika stok di pabrik habis. Media dapat dibedakan berdasarkan fungsi, konsistensi, dan susunan kimianya (Rakhmawati, 2012).

Seperti dengan organisme lain, mikroorganisme memerlukan nutrisi untuk bertahan hidup. Oleh sebab itu, untuk menumbuhkan mikroorganisme diperlukan suatu media. Media merupakan suatu zat yang telah dicampur dengan nutrisi untuk membantu pertumbuhan mikroorganisme. Media ini

dapat digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme, menguji karakteristik fisiologis, dan mengisolasi mikroorganisme.

Saat menyiapkan media, persyaratan berikut harus dipenuhi untuk menjamin pertumbuhan mikroorganisme dengan baik:

1. Memiliki semua nutrisi yang mudah digunakan oleh mikroba
2. Memiliki pH, tegangan permukaan, dan tekanan osmotik yang tepat
3. Tidak mengandung zat yang menghambat
4. Steril

Tergantung pada jenis medianya, ada beberapa cara untuk mensterilkannya. Autoklaf adalah salah satu teknik yang paling banyak digunakan. Uap panas bertekanan pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm merupakan dasar pengoperasian autoklaf. Teknik lainnya adalah pasteurisasi pada media yang mengandung bahan yang tidak tahan terhadap panas tinggi. Sebelum digunakan, media yang telah disterilkan didiamkan semalaman agar tidak terkontaminasi. Tidak perlu mensterilkan media yang terkontaminasi sebanyak dua kali karena akan menyebabkan kerusakan pada media (Rakhmawati, 2012).

### **1. Prinsip dasar sterilisasi medium**

Ada beberapa macam metode sterilisasi dalam medium yaitu:

- a. Pasteurisasi, yang melibatkan perebusan media selama beberapa menit hingga suhu 100°C untuk mematikan sebagian mikroba.
- b. Sterilisasi, yang melibatkan pemanasan media hingga suhu 121°C sambil mempertahankan tekanan uap air yang tinggi untuk menghancurkan mikroba sepenuhnya.
- c. Filtrasi atau penyaringan digunakan membran filter (milipore) dengan diameter pori 0,2 atau 0,45  $\mu\text{m}$  yang bertujuan untuk memisahkan mikroba dari medium larutan yang tidak tahan panas.

- d. Sterilisasi kimia, yaitu menggunakan bahan kimia seperti antibiotik untuk mematikan mikroorganisme (Rakhmawati, 2012).

#### **D. Teknik Isolasi Bakteri**

Mikroorganisme hidup bebas di lingkungan dan dapat ditemukan pada makanan, air, tanah, udara, dan bahkan mikroba tubuh manusia. Hanya ketika mikroorganisme diisolasi dari lingkungannya dan mikroorganisme lain maka mikroorganisme tersebut dapat diamati. Teknik isolasi dapat digunakan untuk ini. Dalam isolasi mikroba, beberapa teknik sering diterapkan. Jenis mikroba yang akan diamati harus menentukan metode yang tepat untuk digunakan (Jufri, 2020).

Dengan menggunakan berbagai teknik seperti penuangan, pengolesan, penggoresan, dan pengenceran serial, satu spesies bakteri dapat diisolasi dari kultur campuran bakteri. Proses ini dikenal sebagai isolasi bakteri. Dalam bidang mikrobiologi, isolasi bakteri merupakan teknik penting yang digunakan untuk membedakan berbagai kelompok bakteri berdasarkan pola pertumbuhannya. Terdapat variasi pada kebutuhan pertumbuhan bakteri yang berbeda pada media nutrisi, serta ketersediaan oksigen, pH, dan faktor lingkungan lainnya. Identifikasi dan klasifikasi bakteri tergantung pada proses isolasi bakteri (Supriya, 2023).

Untuk mendapatkan mikroba yang diinginkan untuk pemeriksaan mikrobiologi, teknik pengambilan sampel harus diperhatikan dengan cermat. Sampel yang diambil perlu mencakup setiap bagian yang diperiksa. Oleh karena itu, penggunaan prosedur yang benar sangat penting untuk menghindari kesalahan yang dapat merusak sampel. Berikut beberapa pedoman pengambilan sampel: sampel harus diambil langsung dari sumbernya; sampel harus disimpan dalam kondisi yang sama sejak pengumpulan sampai dengan selesainya tahap analisis sampel dan kultur; dan sampel harus secara akurat mewakili keseluruhan subjek yang diteliti (Utami, U., Harianie, L., Kusmiyati, N., Fitriasari, P.D, 2018).

Teknik isolasi bakteri menggunakan beberapa metode kultur dan non-kultur. Spesimen dapat dikultur dan diisolasi dari media kultur cair dan padat. Munculnya koloni yang khas dan kekeruhan merupakan indikasi pertumbuhan bakteri baik pada media kultur cair maupun padat.

Tergantung pada substratnya, ada sejumlah teknik isolasi yang tersedia untuk menghasilkan kultur murni. Mikroba dapat diisolasi dari substrat cair menggunakan metode *pour plate method* dan *spread plate method*. Baik metode suspensi maupun metode cawan gores dapat digunakan untuk mengisolasi mikroba dari substrat padat. Salah satu hal yang harus diperhatikan adalah pemilihan sumber biakan, misalnya pemilihan koloni yang representatif untuk dibawa ke dalam biakan murni. Secara umum, koloni di bagian tengah sampel cenderung kurang terkontaminasi dibandingkan koloni di dekat tepinya (Harley J.P & Prescott, L. M, 2002).

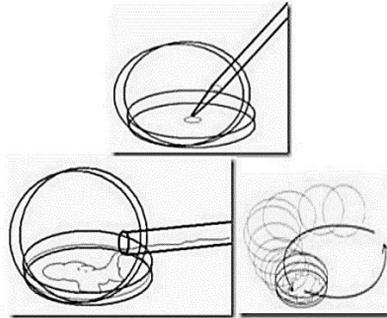
#### **1. Pour Plate Method (Metode Tuang)**

Teknik yang paling sederhana untuk mengisolasi bakteri adalah metode tuang. Biasanya, suspensi bakteri yang mengandung populasi bakteri yang tinggi digunakan dalam metode ini (Supriya, 2023).

Dengan menyebarkan sel bakteri baik di dalam maupun pada permukaan media agar, teknik ini bertujuan untuk menghasilkan campuran sel yang tumbuh pada agar rendah oksigen dan sel yang tumbuh pada permukaan yang kaya oksigen. Dengan cara ini, suspensi bakteri harus dimasukkan ke dalam cawan petri bersama agar yang belum memadat (>45°C). Agar-agar kemudian harus dihomogenisasi dan dibiarkan memadat.

Pertumbuhan bakteri yang tersuspensi dalam media padat dengan metode tuang membuat isolasi bakteri menjadi sulit. Bakteri tertentu terlihat di atas permukaan media nutrisi padat, sedangkan bakteri lain terlihat di bawahnya. Metode penuangan biasanya menyebabkan koloni bakteri tumbuh berlebihan, sehingga sulit untuk mengisolasi kultur

murni. Metode ini merupakan metode yang paling tidak disarankan untuk memperoleh kultur murni (Supriya, 2023).

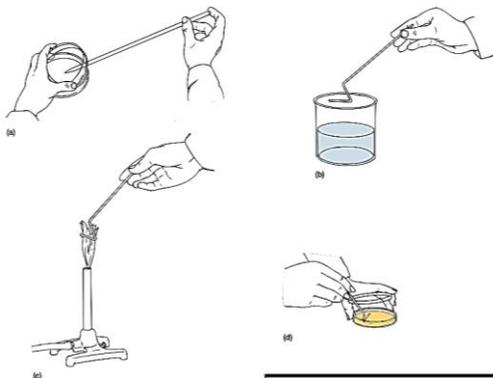


Gambar 2. 1. *Pour Plate Method*  
(Utami, U., Harianie, L., Kusmiyati, N., Fitriasari, P.D, 2018)

## 2. *Spread Plate Method* (Metode Cawan Tebar/Sebar)

Dengan cara mengolesi atau menyebarkan kultur mikroba pada permukaan media agar yang telah dipadatkan, teknik spread plate merupakan salah satu metode untuk isolasi mikroba (Utami, U., Harianie, L., Kusmiyati, N., Fitriasari, P.D, 2018).

Dengan menggunakan penyebar berbentuk L atau T untuk mendistribusikan suspensi bakteri secara merata agar bakteri terdistribusi secara menyeluruh pada permukaan media padat. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35-37 derajat Celcius selama 24 hingga 48 jam



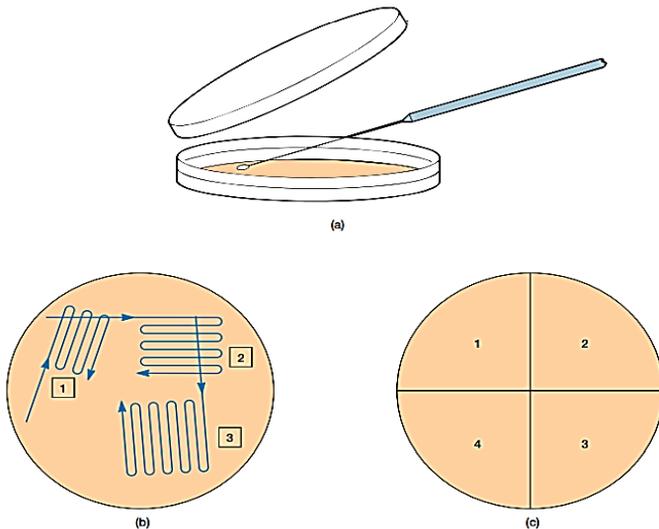
Gambar 2. 2. *Spread Plate Method*  
(Harley J.P & Prescott, L. M, 2002)

### 3. *Streak Plate Method* (Metode Cawan Gores)

Dengan menggunakan ose, metode gores berupaya menghasilkan garis sebanyak mungkin pada permukaan media kultur. Semakin sedikit mikroba yang dilepaskan pada garis goresan, menyebabkan koloni yang terbentuk pada garis akhir menjadi terpisah dan akhirnya bergabung menjadi koloni tunggal. Koloni tunggal adalah koloni yang tumbuh secara terpisah dari satu atau lebih sel induk. Koloni sel biasanya berukuran kecil (Irianto, 2012).

Sel dari koloni baru kemudian dapat diambil dengan jarum inokulasi dan dipindahkan ke agar miring atau media lain yang sesuai untuk mempertahankan kultur murni (Harley J.P & Prescott, L. M, 2002).

Penggoresan yang efektif akan menghasilkan koloni yang berbeda. Koloni bakteri berflagel biasanya berkembang biak, terutama pada lingkungan basah. Lempengan agar dengan permukaan kering harus digunakan untuk menghentikan penyebaran koloni (Utami, U., Harianie, L., Kusmiyati, N., Fitriasari, P.D, 2018).

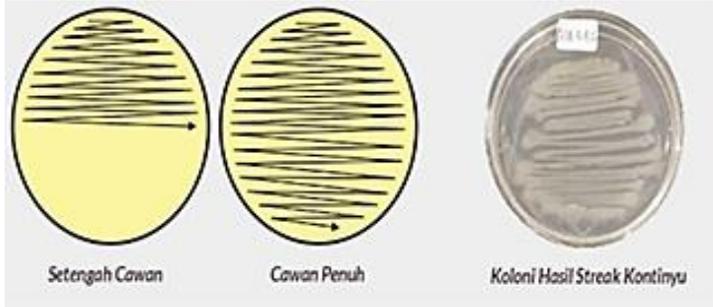


Gambar 2. 3. *Streak Plate Method*

Ada berbagai variasi metode pada metode cawan gores, diantaranya:

a. Goresan Sinambung

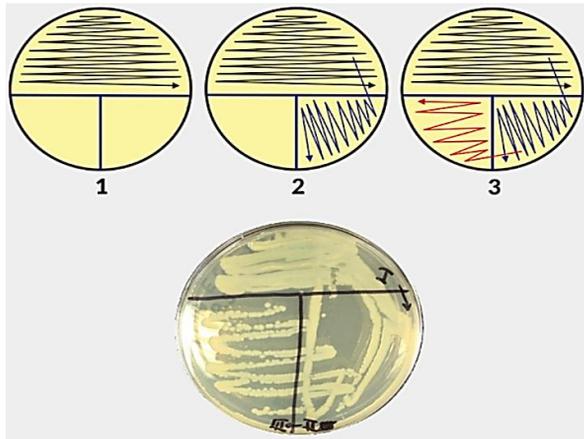
Goresan sinambung bukan untuk mendapatkan koloni tunggal tetapi untuk peremajaan ke cawan atau medium baru.



Gambar 2. 4. Tipe Goresan Sinambung (Akbar, 2021)

b. Goresan T

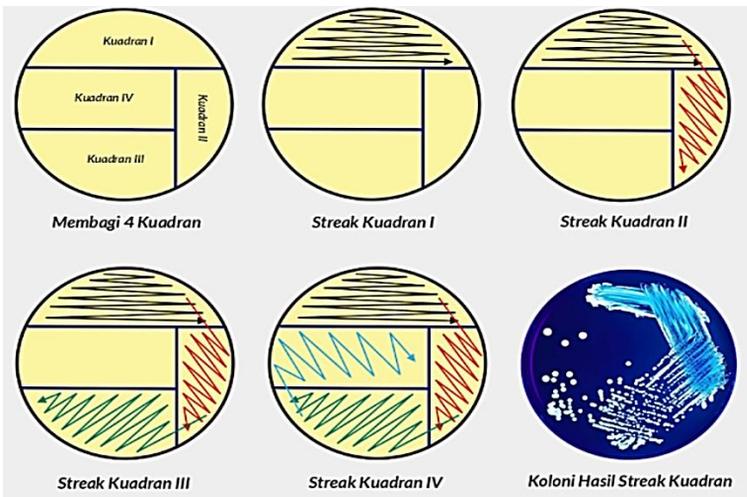
Dengan menggunakan tipe goresan T, area goresan dibagi menjadi tiga bagian untuk menghasilkan satu koloni. Wilayah tersebut akan diinokulasi dengan goresan zigzag.



Gambar 2. 5. Tipe Goresan T (Akbar, 2021)

c. Goresan Kuadran

Goresan kuadran dapat dilakukan dengan menggores secara zig-zag maupun secara terputus. Daerah 1 adalah bagian awal yang masih mengandung banyak sel mikroba. Goresan berikutnya dipotongkan atau disilangkan dari goresan pertama sehingga jumlah bakteri semakin sedikit dan akhirnya terpisah menjadi koloni tunggal. Tipe goresan kuadran hampir sama dengan goresan T hanya pola goresan dibagi ke dalam 4 bagian



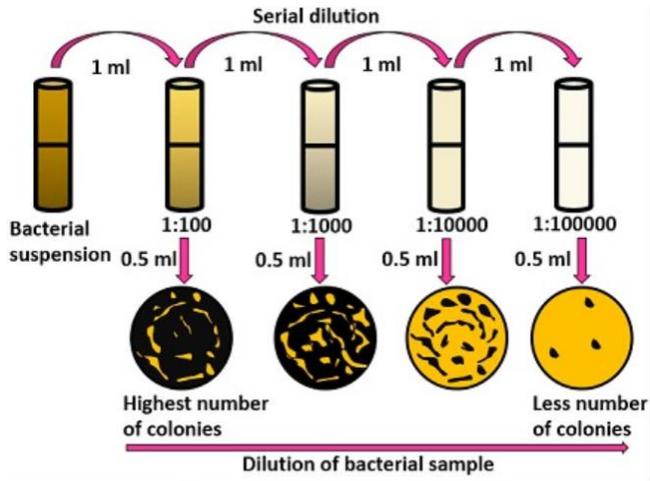
Gambar 2. 6. Tipe Goresan Kuadran (Akbar, 2021)

4. Teknik Serial Dilution (Pengenceran Bertingkat/Berseri)

Teknik ini terkenal untuk isolasi dan kultur bakteri. Dengan menggunakan suspensi bakteri, encerkan secara berurutan dalam tabung reaksi berturut-turut sebagai bagian dari metode pengenceran serial. Pengenceran bertingkat digunakan untuk meminimalkan atau menurunkan jumlah mikroorganisme tersuspensi dalam cairan. Perkiraan jumlah mikroba dalam sampel menentukan jumlah atau tingkat pengenceran. Sampel dan pengenceran pertama dan

selanjutnya dibuat dengan perbandingan 1:9, artinya 1/10 sel berada pada pengenceran berikutnya.

Jumlah koloni yang lebih sedikit akan dihasilkan dari sampel yang mengandung lebih sedikit bakteri, dan sebaliknya. Untuk mempelajari karakteristik bakteri yang diisolasi di bawah mikroskop, kita perlu memilih koloni untuk pewarnaan (Supriya, 2023).



Gambar 2. 7. Teknik Serial Dilution (Supriya, 2023)

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, R. A., 2021. Microbeholic. [Online] Available at: <https://www.microbeholic.com/2021/01/macam-macam-sterilisasi-dan-alat-yang-digunakan.html> [Accessed 2 12 2023].
- Alkadhim, S. A. S., 2018. Hot Air Oven for Sterilization: Definition & Working Principle. SSRN Electronic Journal.
- Bhojwani, S.S and Dantu, P.K, 2013. Plant Tissue Culture: An Introductory Text. 1 ed. India: Springer New Delhi.
- Gupta, N.V and Shukshith K.S., 2016. Qualification of Autoclave. International Journal of PharmTech Research, 9(4), pp. 220-226.
- Harley J.P & Prescott, L. M, 2002. Laboratory Exercises in Microbiology. 5nd ed. s.l.: McGraw-Hill.
- Ikenganyia, E. E., Anikwe, M. A. N., Omeje, T. E., Adinde, J. O, 2017. Plant Tissue Culture Regeneration and Aseptic. Asian Journal of Biotechnology and Bioresource, 1(3), pp. 1-6.
- Irianto, 2012. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar. Purwokerto: Laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman.
- Jufri, R. F., 2020. Microbial Isolation. Journal La Lifesci, 01(01), pp. 018-023.
- Rakhmawati, A., 2012. Media Penyiapan Mikroorganisme, Pelatihan Laboratorium. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Supriya, N., 2023. Biology Reader. [Online] Available at: <https://BiologyReader.com/> [Accessed 8 12 2023].

Utami, U., Harianie, L., Kusmiyati, N., Fitriasaki, P.D, 2018. Panduan Praktikum Mikrobiologi Umum. Malang: Universitas islam negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.

# BAB 3

## PENGARUH LINGKUNGAN TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA

Tacik Idayanti, S.ST, S. Si.

### A. Pendahuluan

Salah satu ciri mikroorganisme hidup dapat dilihat dari adanya pertumbuhan. Pada mikroorganisme uniseluler seperti bakteri, pertumbuhannya dapat berupa penambahan koloni seperti penambahan jumlah koloni, penambahan ukuran koloni, penambahan massa mikroorganisme, pertumbuhan mikroba diartikan sebagai pertumbuhan sel mikroba itu sendiri (Surinder Kumar, 2012). Umumnya pertumbuhan mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Susilawati, Audia and Agustin, 2023). Diantaranya adalah faktor biotik dan faktor abiotik. Faktor biologis merupakan faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme itu sendiri. Sedangkan faktor abiotik merupakan faktor eksternal mikroorganisme yang dapat mempengaruhi pertumbuhannya. Perubahan faktor lingkungan dapat menyebabkan perubahan sifat, morfologi maupun fisiologi mikroba (Van Dijck and Jabra-Rizk, 2017).

### B. Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

#### 1. Faktor Biotik

Di alam, sebagian besar mikroba hidup berdampingan dalam populasi dan jarang sekali ditemukan hidup sendiri. Mereka berkembang biak dengan cepat dilingkungan yang

kaya nutrisi. Mikroorganisme dapat membentuk satu komunitas yang terdiri dari bakteri, jamur, ragi, protozoa, ganggang dan mikroba lain (Hall-Stoodley, Costerton and Stoodley, 2004). Mereka bergerak secara kemotaksis dan berkomunikasi menggunakan quorum sensing, tetapi ada beberapa spesies menggunakan molekul sendiri (Armitage, 2005).

Komunikasi molekul sinyal sel ke sel yang tergantung jumlah produksi molekul pemberi sinyal yang dilepas sebagai respon terhadap perubahan kepadatan populasi sel (Winzer, Hardie and Williams, 2002). Interaksi ini bisa dipengaruhi oleh inang atau lingkungan lokal, pasokan nutrisi, oksigen juga kontak dengan sistem kekebalan inang. Cara yang mendasari interaksi ini meliputi interaksi fisik atau kimia, kontrol lingkungan atau inang, persaingan mendapatkan nutrisi atau tempat menempel dan patogen (Van Dijck and Jabra-Rizk, 2017). Interaksi yang terjadi sangat kompleks (Peleg, Hogan and Mylonakis, 2010).

## **2. Interaksi Mikroba dalam Populasi Tunggal**

Dalam satu populasi, interaksi antar sel mikroba terjadi dalam dua cara: interaksi positif dan interaksi negatif. Interaksi positif atau kooperatif adalah interaksi yang menyebabkan peningkatan laju proliferasi misalnya pertumbuhan sel monomikroba menjadi koloni sel pada fase lag. Interaksi negatif atau kompetitif adalah interaksi yang menyebabkan rendahnya kecepatan pertumbuhan disebabkan tingginya kerapatan komunitas. Contoh komunitas yang tumbuh pada nutrisi yang terbatas akan terjadi perebutan nutrisi ada produk beracun yang dihasilkan mikroba.

## **3. Interaksi dalam Populasi Polimikroba (Susilawati, Audia and Agustin, 2023).**

Populasi yang terdiri lebih dari satu mikroba berbeda berasosiasi akan terjadi berbagai interaksi terlihat pada tabel berikut:

Tabel 3.1. Macam-Macam Interaksi pada Mikroba

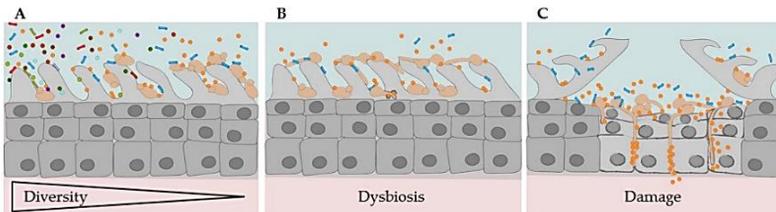
Nama Hubungan	Pengaruh Hubungan	
	Kelompok A	Kelompok B
Netralitas	0	0
Komensalisme	0	+
Sinergisme (Protokooperasi)	+	+
Mutualisme (Simbiosis)	+	+
Kompetisi	-	-
Amensalisme (Antagonisme)	+	-
Predasi	+	-
Parasitisme	+	-

Netralitas adalah interaksi antara dua kelompok mikroorganisme yang tidak saling memberi dampak satu sama lain. Interaksi ini terjadi pada komunitas dengan kepadatan rendah, secara fisik mikrohabitatnya terpisah, atau komunitas di luar habitat aslinya.

- a. Komensalisme adalah hubungan antara dua kelompok yang hidup bersama dengan makanan yang sama tanpa banyak saling mempengaruhi.
- b. Sinergisme adalah interaksi kooperatif syntrophy pada suatu mikroorganisme yang menghasilkan produk sampingan metabolik yang menguntungkan pertumbuhan spesies sekitarnya (Gabriliska and Rumbaugh, 2015).
- c. Mutualisme adalah interaksi antara dua kelompok mikroorganisme yang saling membutuhkan dan menguntungkan keduanya.
- d. Kompetisi adalah interaksi antara dua komunitas mikroba yang tidak menguntungkan satu sama lain.
- e. Amensalisme (antagonisme) adalah interaksi mikroorganisme dalam dua populasi dimana salah satu populasi menghasilkan racun yang merugikan spesies lainnya, sementara pihak lain mendapat keuntungan atau tidak berdampak apapun (Rifai, Widowati and Sutanto, 2020).
- f. Parasitisme adalah interaksi dua komunitas, satu komunitas mendapat keuntungan (parasit) dan

merugikan komunitas lain (tuan rumah). Parasitisme membutuhkan kontak fisik dan metabolik antara parasit dan host dalam waktu yang lama, parasit mengambil nutrisi sepenuhnya dari host. Ukuran host biasanya lebih besar dari pada parasitnya.

- g. Predasi interaksi antara mikroba pemangsa yang memangsa mikroba lain (prey). Umumnya ukuran pemangsa lebih besar dari pada prey dan proses memangsa berlangsung cepat.



Gambar 3. 1. Interaksi Polimikroba

Gambar 3. 1 Interaksi polimikroba bisa menghasilkan manfaat atau merugikan salah satunya. A. Keberagaman mikroba yang tinggi menjaga keseimbangan pertumbuhan mikroba. B. Berkurangnya keanekaragaman misal penggunaan antibiotik maka akan ada spesies tertentu yang dominan atas spesies yang lain. Mikroba oportunistik yang awalnya komensal menjadi patogen. C Interaksi mikroba yang terbentuk bisa saling meningkatkan virulensinya dan menimbulkan kerusakan (Van Dijck and Jabra-Rizk, 2017).

#### 4. Faktor Abiotik

##### a. Nutrien

Mikroba tumbuh membutuhkan lingkungan yang sesuai dan unsur-unsur yang dapat mempengaruhi pertumbuhan, berupa komponen kimia yang dapat di metabolisme mikroba. Untuk tumbuh, suatu mikroorganisme memerlukan semua elemen yang terdapat dalam materi organik serta ion pelengkap yang dibutuhkan untuk proses pembentukan energi dan katalisis.

Unsur ini berupa bahan organik yang meliputi unsur karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen, fosfor dan belerang. Ion anorganik seperti kalium natrium, besi, magnesium, kalsium dan klorida juga diperlukan (Jawetz, Melnick, 2015).

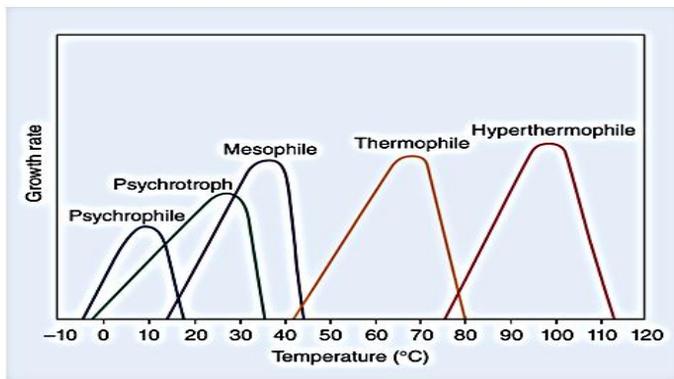
## b. Suhu

Metabolisme sel mikroba sangat dipengaruhi oleh suhu, salah satunya adalah denaturasi protein yang terjadi pada suhu tinggi dan menghambat aktivitas enzim dan kerusakan sel dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba dan biomassa (Darah *et al.*, 2011).

Mikroba tumbuh membutuhkan kisaran suhu tertentu, yang dapat dikategorikan sebagai berikut: Suhu terendah, suhu optimal dan suhu tertinggi. Suhu terendah adalah suhu paling rendah mikroba masih mengalami pertumbuhan. Suhu optimal adalah suhu pertumbuhan terbaik yang dibutuhkan mikroba dan suhu tertinggi adalah suhu paling tinggi mikroba masih dapat tumbuh. Mikroba dapat dikelompokkan berdasarkan kebutuhan suhu untuk tumbuh. Psikrofilik merupakan kelompok mikroorganisme yang dapat tumbuh pada kisaran suhu -5 hingga 15°C, dengan suhu pertumbuhan optimal 15°C. Psikrotrof merupakan kelompok mikroorganisme yang dapat tumbuh pada kisaran suhu optimal 20°C hingga 30°C, namun dapat juga tumbuh pada suhu yang lebih rendah. **Mesofil** merupakan kelompok mikroorganisme yang dapat tumbuh pada suhu minimum 15°C, dan suhu optimal untuk pertumbuhan adalah 30-37°C.

Termofil merupakan kelompok mikroorganisme yang dapat tumbuh pada suhu yang tinggi, dengan suhu terendah 40°C, suhu optimal 50-60°C, dan suhu tertinggi dapat tumbuh pada 75°C. Mikroorganisme termofilik memiliki titik didih yang tinggi karena membran selnya mengandung lipid jenuh. Selain itu, molekul DNA relatif stabil pada suhu tinggi karena tidak mengalami denaturasi pada suhu tinggi dan menghasilkan enzim

serta protein lain yang mengandung guanin dan sitosin dalam jumlah besar dalam DNA. Termofil obligat merupakan kelompok mikroorganisme termofilik yang tidak dapat tumbuh pada suhu di bawah 30°C, dengan suhu pertumbuhan optimal 60°C. Termofil fakultatif adalah sekelompok mikroorganisme termofilik yang dapat tumbuh pada suhu di bawah 30°C. Hipertermofilik adalah sekelompok mikroorganisme yang dapat tumbuh pada suhu yang melebihi titik didih air, yang terdapat pada tekanan tinggi. Sebagian besar mikroba yang ada di alam merupakan golongan mesofilik.

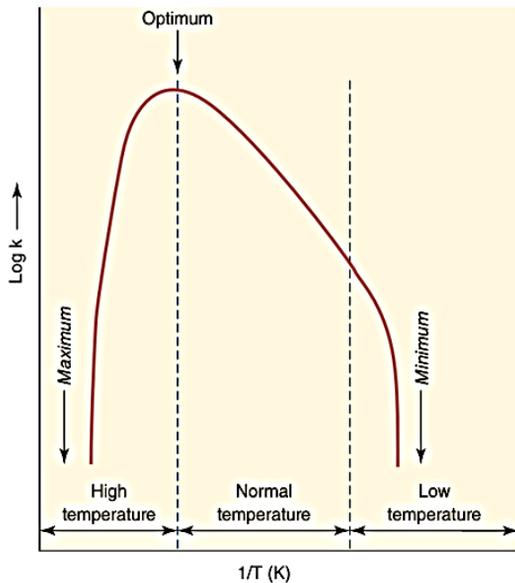


Gambar 3. 2. Penggolongan Suhu Pertumbuhan Mikroba Berdasarkan Suhu Optimumnya yaitu Titik Tempat Laju Pertumbuhan Paling Tinggi (Jawetz, Melnick, 2015)

Batas atas kisaran suhu yang ditoleransi oleh tiap spesies berkorelasi baik dengan stabilitas suhu keseluruhan protein spesies tersebut. Mikroorganisme serta hewan dan tumbuhan sama-sama memiliki respons syok panas (*heat shock response*) yaitu sintesa sementara serangkaian protein syok panas saat organisme tersebut terpapar peningkatan suhu mendadak melebihi suhu optimal untuk pertumbuhan. Protein ini memiliki resistensi yang khas terhadap panas dan mampu menstabilkan protein sensitif panas di dalam sel.

Hubungan antara laju pertumbuhan dan suhu untuk setiap mikroorganisme dapat dilihat pada kurva

Arrhenius. Yang menunjukkan logaritma kecepatan setiap reaksi kimia ( $\log k$ ) suhu ( $1/T$ ); hubungan ini dapat di analisis dari reaksi kimia yang terjadi mempengaruhi pertumbuhan sel. Kisaran suhu normal dan tidak normal untuk spesies tertentu.  $\log k$  berkurang secara linier dengan  $1/T$ . Namun, ketika berada di atas atau di bawah kisaran normal,  $\log k$  turun dengan cepat, sehingga memungkinkan kita untuk menentukan suhu maksimal dan minimal. Selain pengaruh terhadap laju pertumbuhan, suhu ekstrim membunuh mikroorganisme baik dalam kondisi heat shock maupun cold shock (Jawetz, Melnick, 2015).



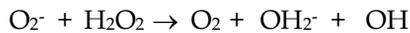
Gambar 3. 3. Kurva Arrhenius untuk Pertumbuhan Bakteri (Jawetz, Melnick, 2015)

**c. Aerasi**

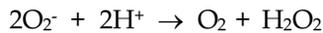
Sebagian besar mikroba merupakan golongan aerob obligat merupakan mikroba yang dalam pertumbuhannya secara spesifik membutuhkan oksigen sebagai akseptor hidrogen; beberapa anaerob fakultatif mikroba yang dapat hidup secara aerob atau anaerob.

mikroorganisme anaerob obligat merupakan mikroorganisme yang memerlukan zat selain oksigen sebagai akseptor hidrogen dan sensitif terhadap keterbatasan oksigen. Lainnya adalah mikroaerofil yang memerlukan oksigen (2-10%) untuk respirasi aerobik (pada konsentrasi tinggi oksigen bisa dihambat); dan ada pula yang anaerob aerotoleran yang tidak terpengaruh oleh oksigen, tetapi tidak menggunakannya sebagai aseptor hidrogen.

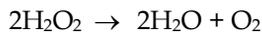
Produk sampingan alami dari metabolisme aerobik adalah senyawa reaktif hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan superoksida ( $O_2^-$ ). Jika terdapat besi akan menghasilkan radikal hidroksil ( $\bullet OH$ ) yang dapat merusak makromolekul apapun.



Secara umum mikroorganisme aerobik dan anaerobik yang toleran terhadap udara dilindungi dari produk reaktif ini dengan adanya superoksida dismutase, suatu enzim yang mengkatalisis reaksi.



Dengan adanya enzim katalase yang mampu mengkatalisis reaksi

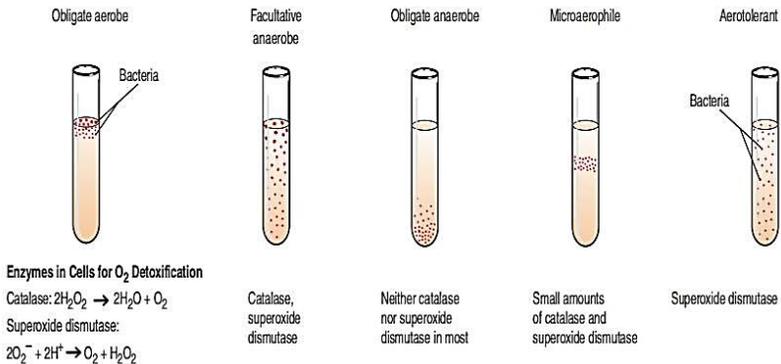


Beberapa mikroba aerotoleran yang tidak menghasilkan enzim katalase maupun peroksida dismutase, oksigen tidak dapat direduksi sehingga  $H_2O_2$  dan  $O_2^-$  tidak diproduksi. Umumnya mikroorganisme anaerobik sejati tidak memiliki superoksida dismutase atau katalase. Beberapa memiliki toleransi tinggi terhadap oksigen karena kemampuan mikroba dalam menghasilkan enzim NADPH oksidasi dalam jumlah yang tinggi yang memiliki kemampuan mereduksi oksigen menjadi air, dengan reaksi:



Hidrogen peroksida memiliki efek toksik dengan cara merusak DNA, mikroba dengan mekanisme perbaikan DNANYa rendah sangat sensitif terhadap hidrogen peroksida.

Difusi oksigen sering digunakan sebagai faktor pembatas dalam menumbuhkan bakteri aerob ketika jumlah sel mencapai  $4-6 \times 10^9$ /ml kecepatan penyebaran oksigen masuk sel secara jelas membatasi kecepatan pertumbuhan mikroba lebih lanjut (Jawetz, Melnick, 2015)



Gambar 3. 4. Mikroba Berdasarkan Kebutuhan Oksigen (O<sub>2</sub>) (Jawetz, Melnick, 2015)

#### d. Kelembaban dan Kandungan Air

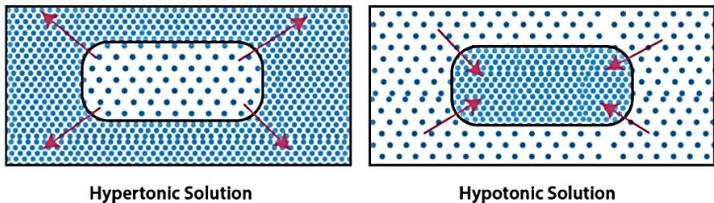
Pertumbuhan mikroba membutuhkan kelembaban tertentu karena air merupakan unsur yang penting dalam protoplasma (Surinder Kumar, 2012). Mikroba membutuhkan air bebas untuk mendukung kehidupannya, parameter pengukuran kandungan air atau kelembaban relatif diistilahkan dengan  $a_w$  (*water activity*). Umumnya angka  $a_w$  yang mendukung pertumbuhan mikroba berkisar antara 0.998 hingga 0.6. Umumnya mikroorganisme memerlukan nilai  $a_w$  antara 0.90 hingga 0.999. Mikroorganisme osmotoleran dapat bertahan hidup dengan  $a_w$  minimal 0,6 dan bakteri halofilik memerlukan  $a_w$  0.75. Mikroorganisme yang

toleran terhadap pengeringan adalah mikroorganisme yang menghasilkan spora, konidia atau kista.

**e. Tekanan Osmotik**

Tekanan osmotik secara umum, mikroorganisme dapat menahan berbagai tekanan osmotik eksternal dan kekuatan ionik karena kemampuannya mengontrol tekanan osmotik dan konsentrasi ionik internal. Pengaturan tekanan osmotik melalui transpor aktif ion  $K^+$  masuk sel; kekuatan ionik internal dijaga tetap stabil dengan melengkapi penghilangan putresin poliamina, yang memiliki kekuatan positif spesifik berdasarkan molekul demi molekul. Penurunan kekuatan ionik yang besar dapat dicapai dengan penurunan kecil kekuatan osmotik.

Osmolaritas erat kaitannya dengan kandungan air. Ketika mikroorganisme ditempatkan di dalam larutan hipertonik, mereka mengalami plasmolisis, dimana membran sel pada dinding sel terlepas karena kontraksi sitoplasma akibat dehidrasi. Dehidrasi yang berkepanjangan menyebabkan kerusakan permanen pada sitoplasma. Namun, jika mikroorganisme berada dalam larutan hipotonik, terjadi plasmolisis yaitu sel membengkak dan lisis karena adanya cairan yang masuk ke dalam sel.



Gambar 3. 5. Larutan Hipotonik dan Hipertonik

<https://open.oregonstate.edu/generalmicrobiology/chapter/environmental-factors/>

Berdasarkan kebutuhan osmotiknya, mikroorganisme dibagi menjadi beberapa kategori berikut: Mikroorganisme Osmofilik merupakan

mikroorganisme yang dapat tumbuh walaupun pada konsentrasi gula yang tinggi. Mikroorganisme Halofilik merupakan mikroorganisme yang dapat tumbuh pada konsentrasi garam halogen tinggi dan memerlukan konsentrasi NaCl lebih besar dari 0.2M. Umumnya bakteri ini memiliki kadar KCL yang tinggi di dalam selnya. Mikroorganisme ini mengandung konsentrasi kalium yang tinggi, yang menjamin stabilitas ribosom. Selain itu, Mikroorganisme ini memiliki membran ganda berwarna ungu dan dinding selnya terbuat dari murein, sehingga tahan terhadap ion Natrium. Perbedaan konsentrasi ion Natrium dapat mempengaruhi tekanan osmotik (Arivo and Annissatussholeh, 2017). Dan mikroorganisme Halodurik merupakan kelompok mikroorganisme yang mampu bertahan hidup (tidak mati) namun tidak mampu tumbuh pada tingkat salinitas tinggi hingga 30%.

**f. Cahaya**

Kondisi gelap memberikan keuntungan terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan mikroba. Mikroba sangat sensitif terhadap sinar ultraviolet dan radiasi dari sinar matahari. Atau sinar ultraviolet dari lampu merkuri yang memiliki sifat bakteriosida. Paparan cahaya dapat mempengaruhi produksi pigmen. pigmen dari mikrobakteri fotokromogenik membentuk pigmen hanya jika terkena cahaya (Surinder Kumar, 2012).

**g. Ion dan Listrik**

1) Kadar Ion Hidrogen (pH)

Mikroorganisme umumnya menyukai pH netral (pH 7), namun beberapa mikroorganisme dapat bertahan hidup pada pH tinggi (basa) atau pH rendah (Asam). Oleh karena itu, Mikroorganisme dapat digolongkan menjadi tiga kelompok berdasarkan pH yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Acidobacteria adalah sekelompok mikroorganisme yang dapat bertahan hidup dan tumbuh pada pH antara 2,0 dan 5,0. Mesofil (neutrofil) merupakan

kelompok mikroorganisme yang mampu bertahan dan tumbuh pada pH 5,5 hingga 8,0 dan mikroba Alkalofil merupakan kelompok mikroorganisme yang mampu bertahan dan tumbuh pada pH 8,4 hingga 9,5.

Tabel 3.2. pH Terendah, Optimal, dan Tertinggi untuk Beberapa Jenis Bakteri

Nama Mikroba	pH		
	Terendah	Optimal	Tertinggi
<i>Escherichia coli</i>	4,4	6,0-7,0	9,0
<i>Proteus vulgaris</i>	4,4	6,0-7,0	8,4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4,4	6,0-7,0	9,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,6	6,6-7,0	8,0
<i>Clostridium sporogenes</i>	5,0-5,8	6,0-7,6	8,5-9,0
<i>Nitrosomonas spp</i>	7,0-7,6	8,0-8,8	9,4
<i>Nitrobacter spp</i>	6,6	7,6-8,6	10,0
<i>Thiobacillus Thiooxidans</i>	1,0	2,0-2,8	4,0-6,0
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4,0-4,6	5,8-6,6	6,8

## 2) Buffer

Pertumbuhan mikroba memerlukan pH yang stabil terutama pada kelompok mikroorganisme penghasil asam. Oleh karena itu, perlu dilakukan penambahan buffer pada media pertumbuhan agar pH tetap stabil. Buffer adalah campuran garam monobasa dan dibasik serta senyawa amfoter. Contoh buffer fosfat anorganik yang dapat mempertahankan pH di atas 7,2. Buffer menyerap ion  $H^+$  dari garam dibasik dan garam monobasik bereaksi dengan ion  $OH^-$ .

## 3) Ion-ion lain

Logam berat dalam jumlah kecil bersifat racun bagi mikroorganisme. Contoh logam berat beracun Hg, Ag, Cu, Au, dan Pb. Logam berat ini mempunyai sifat oligodinamik yaitu kekuatan mematikan logam berat dalam jumlah kecil. Selain itu, terdapat ion lain yang dapat mempengaruhi fisiologi dan pertumbuhan mikroorganisme tertentu, seperti sulfat, tartrat,

klorida, nitrat, dan benzoat. Oleh karena itu, ion-ion ini sering digunakan sebagai bahan pengawet.

#### **h. Tekanan Mekanik dan Stress**

Mikroba meskipun memiliki dinding sel yang kuat, tetap saja bisa terjadi kerusakan atau pecah jika mengalami tekanan mekanik seperti penggilingan atau guncangan kuat dengan manik-manik kaca, selain itu paparan getaran ultrasonik juga dapat menghancurkan dinding sel mikroba. (Surinder Kumar, 2012).

## DAFTAR PUSTAKA

- Arivo, D. and Annissatussholeh, N. (2017) 'Pengaruh Tekanan Osmotik pH, dan Suhu Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*', *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 4(3), pp. 153-160.
- Armitage, J. P. (2005) 'Understanding the Development and Formation of Biofilms', *Group*, 1, pp. 2-4.
- Darah, I. *et al.* (2011) 'Involvement of Physical Parameters in Medium Improvement for Tannase Production by *Aspergillus niger* FETL FT3 in Submerged Fermentation', *Biotechnology Research International*, 2011, pp. 1-7. doi: 10.4061/2011/897931.
- Van Dijck, P. and Jabra-Rizk, M. A. (2017) 'Fungal-Bacterial Interactions: In health and disease', *Candida albicans: Cellular and Molecular Biology: Second Edition*, pp. 115-143. doi: 10.1007/978-3-319-50409-4\_8.
- Gabriliska, R. A. and Rumbaugh, K. P. (2015) 'Biofilm Models Of Polymicrobial Infection', *Future Microbiology*, 10(12), pp. 1997-2015. doi: 10.2217/fmb.15.109.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W. . and Stoodley, P. (2004) 'Bacterial Biofilms A Diagnostic', *Nature reviews microbiology*, 2(2), p. 95108. Available at: <https://www.nature.com/articles/nrmicro821>.
- Jawetz, Melnick, & A. (2015) *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology Twenty-Seventh Edition.*, *Medical Microbiology*. Available at: <http://www.thieme-connect.de/products/ebooks/abstract/10.1055/b-0034-71555>.
- Peleg, A. Y., Hogan, D. A. and Mylonakis, E. (2010) 'Medically Important Bacterial-Fungal Interactions', *Nature Reviews Microbiology*, 8(5), pp. 340-349. doi: 10.1038/nrmicro2313.

- Rifai, M. R., Widowati, H. and Sutanto, A. (2020) 'Sinergisme Dan Antagonisme Beberapa Jenis Isolat Bakteri Yang Dikonsorsiumkan', *Biolova*, 1(1), pp. 19-24. doi: 10.24127/biolova.v1i1.31.
- Surinder Kumar (2012) *Textbook of Microbiologi*. 1st edn, JAYPEE BROTHERS MEDICAL PUBLISHERS (P) LTD. 1st edn. New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd. Available at: [https://books.google.co.id/books?hl=en&lr=&id=ikl-ds56O4EC&oi=fnd&pg=PR1&ots=fjQA7kTDMT&sig=ySRNRatsfQeWtLxtOnsHvw961i4&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.co.id/books?hl=en&lr=&id=ikl-ds56O4EC&oi=fnd&pg=PR1&ots=fjQA7kTDMT&sig=ySRNRatsfQeWtLxtOnsHvw961i4&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false).
- Susilawati, S., Audia, M. and Agustin, N. R. (2023) 'Peranan Mikrobiologi Dalam Pengelolaan Lingkungan (Studi Tentang Mikro Organisme di Lingkungan Alamiah)', 3(3), pp. 359-363.
- Winzer, K., Hardie, K. R. and Williams, P. (2002) 'Bacterial Cell-To-Cell Communication', p. 7. doi: [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(02\)00304-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00304-1).

# BAB 4

## TEKNIK LABORATORIUM MIKROBIOLOGI

apt. Emelda, M. Farm.

### A. Prinsip Pengerjaan Laboratorium Mikrobiologi

Kegiatan praktek mikrobiologi di laboratorium perlu direncanakan dengan baik dan dilaksanakan oleh personil yang tepat. Beberapa hal yang perlu dilakukan dalam kegiatan praktek mikrobiologi yaitu:

1. Preparasi dan sterilisasi peralatan dan media kultur
2. Preparasi kultur mikroba
3. Inokulasi media dengan kultur yang telah dipreparasi
4. Inkubasi pada kultur dan sampling
5. Sterilisasi dan pembuangan kultur yang aman dan dekontaminasi semua peralatan yang terkontaminasi.

Bekerja di Laboratorium mikrobiologi perlu dilakukan secara aseptik untuk mencegah terjadinya perpindahan bakteri dari lingkungan sekitar ke media kultur (mencegah terjadinya kontaminasi) dan perlu diingat bahwa mikroba ada di semua permukaan laboratorium, begitu juga di tangan dan pakaian praktikan (Petersen and McLaughlin, 2016). Teknik aseptik adalah suatu teknik yang berupaya untuk menjaga sterilitas dari alat dan bahan yang digunakan dalam praktek. Kondisi aseptik dapat diperoleh melalui upaya seperti menggunakan pemanasan dengan autoklaf, desinfektan ataupun dengan pemanasan sederhana menggunakan air mendidih sehingga semua mikroba dapat dihilangkan sebelum dilakukan kegiatan praktikum di laboratorium (Baseman *et al.*, 2021).

## **B. Peralatan Pendukung dalam Laboratorium Mikrobiologi**

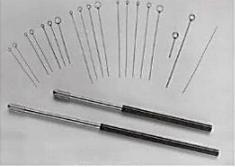
Laboratorium mikrobiologi perlu dilengkapi dengan peralatan pendukung untuk menunjang pelaksanaan kegiatan baik untuk praktikum maupun penelitian. Beberapa alat yang umum terdapat di laboratorium mikrobiologi dan fungsinya sebagai berikut:

### **1. Autoklaf**

Autoklaf digunakan untuk sterilisasi bahan ataupun media dengan menggunakan uap dengan suhu dan tekanan tinggi (umumnya pada 121<sup>0</sup>C, 15 lbs) selama 15 menit yang dihitung pada saat suhu autoklaf mencapai suhu 121<sup>0</sup>C. Alat dan bahan yang biasa disterilisasi dengan autoklaf seperti media untuk pertumbuhan mikroba, bahan kimia tidak mudah terbakar.

### **2. Oven**

Oven digunakan pada laboratorium mikrobiologi untuk sterilisasi dengan metode panas kering. Oven tidak memanfaatkan uap seperti autoklaf. Suhu yang digunakan dengan oven lebih tinggi daripada autoklaf yaitu 180<sup>0</sup>C.

 <p>Autoklaf</p>	 <p>Oven</p>	 <p>Cawan Petri</p>
 <p>Jarum Ose</p>	 <p>Tabung Reaksi</p>	 <p>Batang Drigalsky</p>
 <p>Bunsen</p>	 <p>Inkubator</p>	 <p>Colony counter</p>
 <p>Mikroskop</p>	 <p>Biosafety Cabinet (BSC)</p>	

Gambar 4. 1. Contoh Alat Laboratorium Mikrobiologi

### 3. Cawan Petri

Cawan petri digunakan sebagai alat untuk membiakkan sel mikroba yang memiliki ruang penyimpanan besar dan mencegah kontaminasi oleh bahan lain. Warna cawan yang transparan memudahkan praktikan mengamati pertumbuhan mikroba dengan jelas. Cawan petri juga dapat diamati di bawah mikroskop tanpa harus dipindahkan ke objek glass.

### 4. Jarum Ose

Jarum ose/loop merupakan alat untuk inokulasi atau pemindahan mikroba adalah alat yang digunakan untuk inokulasi mikroba. Batang ose memiliki bentuk menyerupai batang pengaduk dimana pada bagian ujungnya terdapat kawat yang berbentuk bulat (jarum ose) dan lurus (jarum inokulasi). Jarum ose untuk inokulasi pada media cair dan jarum inokulasi untuk inokulasi pada media padat dengan metode gores.

### 5. Tabung Reaksi dan Tabung Durham

Tabung reaksi digunakan untuk menyimpan media dan juga sebagai tempat pengenceran. Sedangkan tabung durham digunakan sebagai alat bantu untuk indikator pada pengujian mikrobiologi dengan menghitung jumlah mikroba terendah yang hidup yaitu metode MPN (*Most Probable Number*).

### 6. Batang Drigalsky (*Spreader*)

Batang drigalsky digunakan untuk meratakan sampel ke dalam media yang terdapat dalam cawan petri.

### 7. Bunsen

Bunsen atau juga disebut dengan lampu spiritus pada laboratorium mikrobiologi digunakan untuk sterilisasi dengan metode pemijaran seperti pada sterilisasi jarum ose sebelum inokulasi sampel dan mengkondisikan daerah sekitar agar tetap dalam keadaan aseptis dengan jarak maksimal 30 cm.

## **8. Inkubator**

Inkubator digunakan sebagai tempat inkubasi biakan dengan suhu yang optimal dan terjaga untuk suatu mikroorganisme dapat mengalami pertumbuhan karena dilengkapi dengan pengatur suhu dan bahkan kelembaban. Prinsip dari inkubator sama seperti oven yaitu menggunakan prinsip panas-kering.

## **9. Colony Counter**

*Colony counter* dalam kegiatan laboratorium mikrobiologi digunakan sebagai alat hitung koloni mikroba yang telah ditumbuhkan di dalam cawan petri.

## **10. Mikroskop**

Mikroskop digunakan sebagai alat untuk membantu pengamatan terhadap objek yang tidak dapat dilihat dengan mata. Dalam mikrobiologi digunakan untuk mengamati mikroba secara mikroskopis. Melalui pengamatan ini, praktikan dapat melihat struktur dari mikroorganisme yang diamati

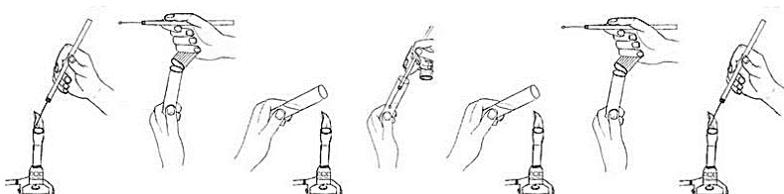
## **11. Biosafety Cabinet (BSC)**

Biosafety cabinet adalah area kerja yang dilengkapi dengan Filter HEPA (*High Efficiency Particular Air*) yang bekerja dengan menghasilkan aliran masuk udara untuk melindungi praktikan yang sedang bekerja dengan membuang udara tersebut melalui HEPA filter. BSC bertujuan untuk melindungi praktikan dari mikroorganisme dan menjaga sampel dari kontaminasi ruangan. BSC sendiri terbagi atas 3 kelas. BSC kelas I, II dan III.

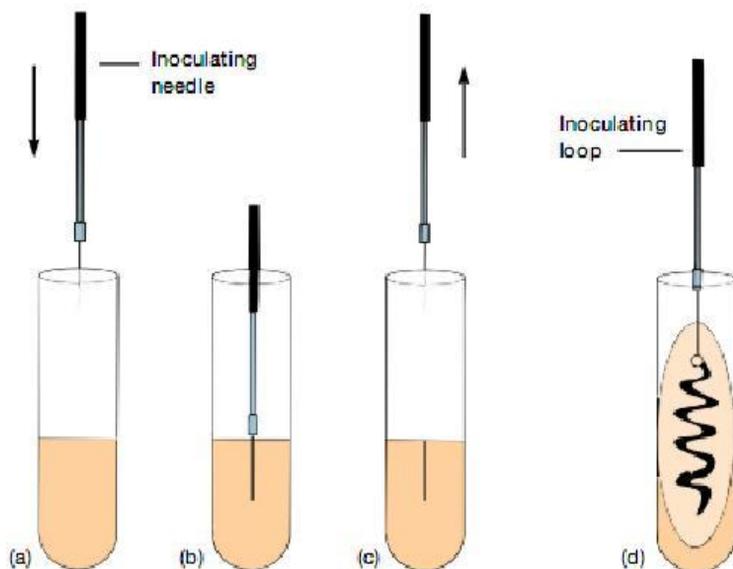
### C. Transfer Mikroorganism

Teknik ini merupakan salah satu teknik dasar yang penting dalam laboratorium mikrobiologi untuk mendukung keberhasilan pengujian. Teknik ini juga dilakukan secara aseptik. Dua faktor yang harus diperhatikan Ketika mentransfer mikroorganism adalah keakuratan dan kecepatan pengerjaan. Bekerja terlalu lama dapat meningkatkan resiko kontaminasi, sedangkan bekerja terlalu cepat meningkatkan resiko tidak steril.

Sebelum melakukan transfer mikroorganism, tempat kerja harus dibersihkan dengan desinfektan. Semua pekerjaan harus dilakukan dalam kondisi steril. Saat melakukan inokulasi dengan jarum, pastikan jarum dipanaskan sebelum dan sesudah digunakan. Hal yang sama juga dilakukan pada leher tabung. Transfer mikroorganism dilakukan dalam beberapa cara yaitu dengan metode zig-zag (streak) ataupun dengan stab (meletakkan pada suatu titik). Metode zig-zag biasa dilakukan untuk memindahkan biakan khamir dan bakteri. Prosedur metode ini dengan menggoreskan ujung jarum ose yang telah mengandung mikroba di atas permukaan media mulai dari ujung bagian bawah sampai atas. Metode stab dengan cara biakan diambil sedikit menggunakan jarum *needle* atau inokulum. Kemudian jarum diletakkan di atas permukaan media miring.



Gambar 4. 2. Teknik Aseptik pada Praktikum Mikrobiologi



Gambar 4. 3. Transfer Mikroorganisme dengan Metode Streak (a-c); Metode zig-zag (d) (Harley and Prescott, 2002)

Teknik yang juga perlu diperhatikan adalah teknik pipetting. Pengambilan cairan menggunakan pipet, tidak diperkenankan menyedot dengan mulut karena resiko bahaya yang ditimbulkan. Tetes terakhir dari cairan harus dikosongkan untuk mendapatkan volume yang tepat dan pembacaan volume yang benar adalah di bawah dari meniscus. Kontaminasi pada praktikan dapat terjadi apabila praktikan menyentuh ujung atau bagian inti pipet dengan jari. Oleh sebab itu, hal tersebut tidak diperkenankan untuk dilakukan.

#### D. Media Pertumbuhan Mikroba

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran nutrisi atau zat makanan yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Media juga digunakan untuk isolasi, reproduksi, dan pengujian sifat fisiologis dan jumlah mikroba. Media yang cocok untuk pertumbuhan mikroba harus mempunyai kondisi yang sesuai dengan lingkungan

pertumbuhan mikroba seperti struktur makanan yang mengandung air untuk mempertahankan air dan pertukaran zat/metabolisme, temperatur sesuai, sumber karbon, mineral, vitamin, gas, asam isotonik dan derajat keasaman/pH netral. Selain itu juga mengandung sumber-sumber seperti energi (gula), vitamin dan ion organis yang penting.

Berdasarkan sifat fisik, media diklasifikasikan menjadi media padat, media cair dan media setengah padat. Berdasarkan kandungan bahan, media diklasifikasikan menjadi media sintetik, dan media kompleks. Berdasarkan fungsinya media diklasifikasikan menjadi media transport, media penyimpanan (*preservation*), media suspensi, media penyegaran (*resuscitation*), media pengaya (*enrichment*), media isolasi, media diferensial, media identifikasi, media enumerasi, media enumerasi.

Klasifikasi media berdasarkan sifat fisik:

### **1. Media Padat**

Media padat adalah media yang mengandung substansi pematat seperti agar, gelatin dengan konsentrasi tertentu. Media padat akan menjaga sel agar tidak berpindah tempat sehingga mudah dihitung dan dipisahkan jenisnya.

### **2. Media Cair**

Media yang terdiri dari satu atau lebih konstituen. Media cair akan memudahkan mikroba tercampur dan menyebar dalam nutrisi.

### **3. Media Setengah Padat**

Media yang mengandung agar dengan konsentrasi yang tidak terlalu besar yaitu 0,3-0,4% sehingga media ini memiliki penampakan yang tidak begitu padat dan tidak begitu cair (semi padat). Media setengah padat dapat tetap menyebar ke seluruh media dengan mikroba yang tidak mudah tergoyang.

Klasifikasi media berdasarkan kandungan bahan:

### 1. Media Alami

Media alami merupakan media alam yang tidak diketahui jenis dan ukurannya yang terdapat secara alami. seperti buah, biji, nasi, daging

### 2. Media Sintetik

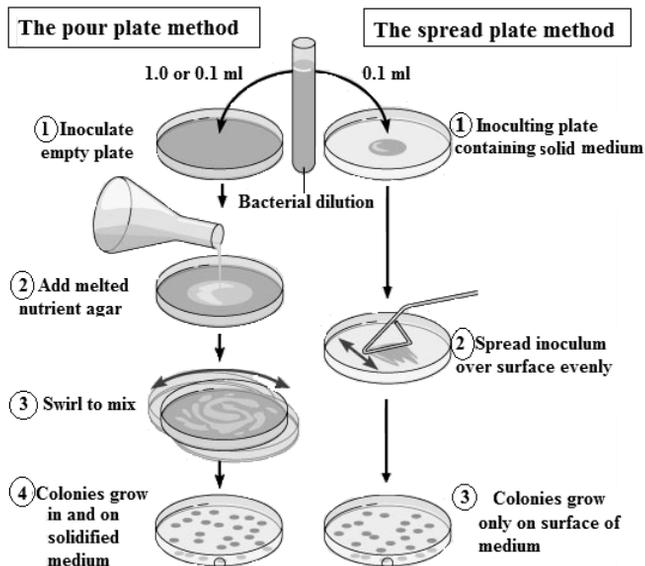
Media sintetik juga disebut dengan media buatan dimana komposisi, jenis dan ukurannya diketahui secara pasti dan tidak tersedia di alam. Contohnya czapek's dox agar

### 3. Media Semi Sintetik

Media semi sintetik adalah media dengan komposisinya diketahui secara pasti dan sebagai tidak diketahui secara pasti. Media ini terdiri atas media alami dan media sintetik. Contoh : Potato Dextrose agar

## E. Teknik Penanaman Mikroba

### 1. Spread Plate Method (Cawan Sebar)

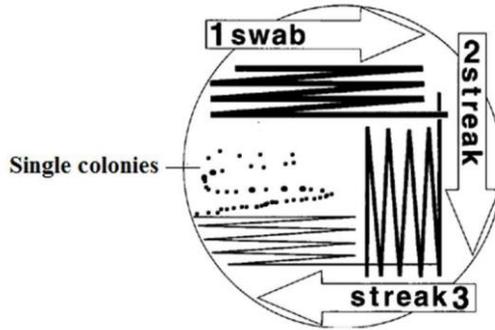


Gambar 4. 4. Perbedaan Metode *Pour Plate* dan *Spread Plate* (Alnaimat and Abushattal, 2012)

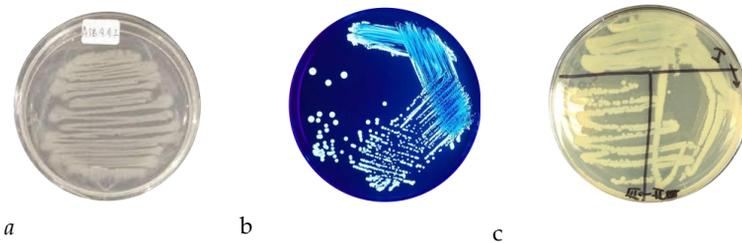
Metode ini digunakan untuk memisahkan mikroorganisme dari campuran encer sehingga koloni dapat diisolasi. Pada Teknik ini, sejumlah campuran mikroba dalam volume kecil dipindahkan ke dalam cawan yang berisi agar, kemudian disebar dengan menggunakan *spreader* steril sambil memutar cawan petri. Sel mikroba akan mengendap pada permukaan agar. Plate agar lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam posisi terbalik. Sel-sel mikroba yang tersebar akan berkembang menjadi koloni-koloni. Populasi mikroba dapat dihitung karena Jumlah koloni akan sama dengan jumlah organisme yang hidup dalam sampel.

## 2. *Streak Plate Method* (Metode Cawan Gores)

Metode *Streak Plate* dilakukan dengan menggunakan jarum ose steril yang dicelupkan ke dalam suspensi mikroba dengan pengenceran tertentu, kemudian ose digoreskan pada bagian atas agar yang sebelumnya sudah dipadatkan hingga terbentuk goresan zig-zag yang tidak tumpang tindih. Tujuan dari metode ini adalah untuk memperoleh koloni bakteri yang terpisah dengan baik dari suspensi pekat dan memperbanyak jumlah koloni mikroba pada media pertumbuhan. Metode *streak plate* (cawan gores) dibagi menjadi 3 tipe, yaitu tipe goresan sinambung (kontinyu), tipe huruf T dan tipe kuadran. Goresan sinambung digunakan untuk meremajakan sel mikroba dari media lama ke media yang baru. Goresan huruf T digunakan untuk mendapatkan koloni tunggal dengan membagi area goresan menjadi 3. Goresan kuadran memiliki kesamaan dengan goresan T, namun pada goresan kuadran dibagi menjadi 4 area dengan harapan dapat memisahkan koloni mikroba dengan lebih baik sehingga diperoleh koloni tunggal mikroba.



Gambar 4. 5. Goresan dengan Metode *Streak Plate*



Gambar 4. 6. Metode *Streak Plate* dengan Kontinyu (a); Kuadran (b); *Streak T*(c)

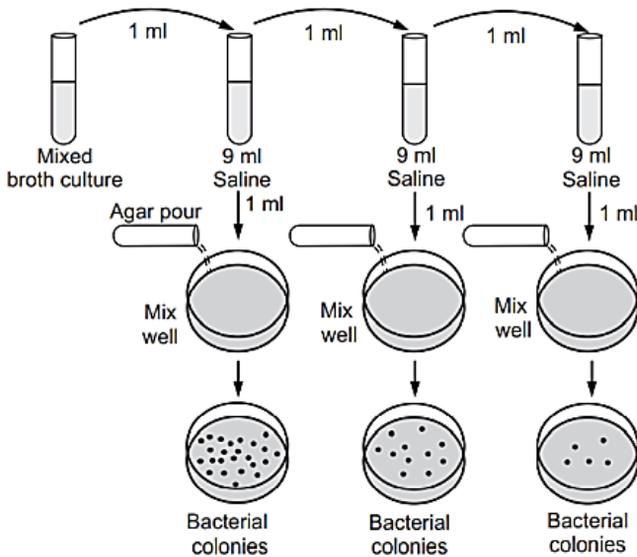
### 3. *Pour Plate Method* (Metode Cawan Tuang)

Metode ini merupakan metode kultur mikroba dimana sampel cair ditambahkan Bersama-sama dengan media atau sebelum media membeku dan mikroorganismenya hidup di dalamnya diisolasi dan dihitung. Teknik ini biasa digunakan untuk menghitung mikroorganismenya hidup dengan menghitung jumlah unit pembentuk koloni (CFU) pada media padat atau pada permukaan. Teknik ini memerlukan pengenceran sampel secara bertahap untuk menjaga kandungan mikroba dalam sampel berada pada 20 dan 300 CFU/ml. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam cawan petri lalu dituang media ke dalamnya. Cara lainnya adalah dengan mencampurkan sampel dengan media terlebih dahulu lalu dituang ke dalam cawan petri. Media dibiarkan mengeras dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

Tujuan penggunaan metode cawan tuang adalah untuk mengisolasi mikroorganisme dari sampel cairan, menghitung mikroorganisme dengan menghitung unit pembentuk koloni (CFU/ml) dan isolasi kultur murni mikroorganisme dari campuran dan isolasi mikroorganisme dalam koloni terpisah untuk mengamati koloni yang ada. Koloni yang terlihat dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{CFU/ml} = \frac{\text{Jumlah Koloni yang teramati} \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{Volume sampel/spesimen}}$$

Gambar 4. 7. Perhitungan Koloni CFU/ml



Gambar 4. 8. Metode *Pour Plate*

## DAFTAR PUSTAKA

- Alnaimat, S. M. and Abushattal, S. (2012) Laboratory Manual in General Microbiology For Undergraduate Students., Short Version. Al-Hussein Bin Talal University. Available at: [https://www.researchgate.net/publication/257380059\\_Laboratory\\_Manual\\_in\\_General\\_Microbiology\\_For\\_Undergraduate\\_Students\\_Short\\_Version](https://www.researchgate.net/publication/257380059_Laboratory_Manual_in_General_Microbiology_For_Undergraduate_Students_Short_Version) (Accessed: 14 December 2023).
- Baseman, H. *et al.* (2021) 'Words Matter: A Commentary and Glossary of Definitions for Microbiological Quality', *Biomedical Instrumentation & Technology*, 55(4), pp. 143-164. doi: 10.2345/0899-8205-55.4.143.
- Harley, J. P. and Prescott, L. M. (2002) 'Laboratory Exercises In Microbiology', p. 466.
- Metode Cawan Gores (Streak Plate) - Prinsip, Manfaat, Tipe dan Cara Kerja - MicrobeHolic (no date). Available at: <https://www.microbeholic.com/2022/09/metode-cawan-gores-streak-plate.html> (Accessed: 23 December 2023).
- Petersen, J. and McLaughlin, S. (2016) 'Laboratory Exercises in Microbiology: Discovering the Unseen World Through Hands-On Investigation', Open Educational Resources. Available at: [https://academicworks.cuny.edu/qb\\_oers/16](https://academicworks.cuny.edu/qb_oers/16) (Accessed: 11 December 2023).

# BAB 5

# TEKNIK MIKROSKOPI

Ni Made Sri Dwijastuti, S.Si., M. Biomed.

Teknik mikroskopi adalah metode yang digunakan untuk menganalisis struktur mikroskopis dari berbagai material dan bahan dalam berbagai bidang ilmu. Mikroskopi telah banyak digunakan dalam bidang mikrobiologi untuk menganalisis sifat dan struktur mikroskopis dari sel bakteri, virus, dan mikroorganisme lainnya. Teknologi mikroskopi memungkinkan para ilmuwan dan peneliti untuk menganalisis sifat dan struktur mikroskopis dari berbagai jenis mikroorganisme dengan cepat dan dengan tingkat akurasi yang tinggi.

## A. Sejarah Penggunaan Mikroskop

Konsep perbesaran sudah lama dikenal. Sekitar tahun 1267, filsuf Inggris Roger Bacon menulis dalam *Perspectiva*, "[Kita] dapat menghitung partikel terkecil dari debu dan pasir berdasarkan kebesaran sudut pandang yang kita gunakan untuk melihatnya," dan pada tahun 1538, seorang dokter Italia, Girolamo Fracastoro, menulis dalam *Homocentrica*, "Jika seseorang melihat melalui dua kacamata, yang satu ditumpangkan di atas kaca mata yang lain, ia akan melihat segala sesuatu yang jauh lebih besar."

Tiga pembuat kacamata Belanda-Hans Jansen, putranya Zacharias Jansen, dan Hans Lippershey-telah menerima pujian karena menciptakan mikroskop majemuk sekitar tahun 1590. Penggambaran pertama mikroskop digambar sekitar tahun 1631

di Belanda. Gambar tersebut jelas merupakan mikroskop majemuk, dengan sebuah lensa okuler dan lensa objektif. Instrumen semacam ini, yang kemudian terbuat dari kayu dan karton, sering kali dihiasi dengan kulit ikan yang dipoles, menjadi semakin populer pada pertengahan abad ke-17 dan digunakan oleh filsuf alam Inggris, Robert Hooke, untuk memberikan demonstrasi rutin untuk Royal Society yang baru. Demonstrasi ini dimulai pada tahun 1663, dan dua tahun kemudian Hooke menerbitkan sebuah buku folio berjudul *Micrographia*, yang memperkenalkan berbagai macam tampilan mikroskopis dari benda-benda yang sudah dikenal diantaranya: kutu, tungau, dan jelatang. Dalam buku ini ia menciptakan istilah sel.

Tersembunyi di halaman tanpa nomor pada kata pengantar *Micrographia* adalah deskripsi tentang bagaimana satu lensa berdaya tinggi bisa dibuat menjadi mikroskop yang bisa digunakan, dan dengan menggunakan desain ini, pegawai negeri sipil Belanda Antonie van Leeuwenhoek memulai pengamatan perintis mikroorganisme air tawar pada tahun 1670-an. Dia membuat mikroskop seukuran perangkai dengan tangan, dan yang terbaik dari mikroskop tersebut dapat menyelesaikan detail sekitar  $0,7 \mu\text{m}$ . Spesimen-spesimennya yang ditemukan dalam kondisi sangat baik di Royal Society lebih dari tiga abad kemudian membuktikan betapa hebatnya dia sebagai seorang teknisi. Dengan menggunakan mikroskop sederhananya, Leeuwenhoek secara efektif meluncurkan mikrobiologi pada tahun 1674, dan mikroskop berlensa tunggal tetap populer hingga tahun 1850-an. Pada tahun 1827, mikroskop ini digunakan oleh ahli botani Skotlandia, Robert Brown, untuk mendemonstrasikan keberadaan inti sel di berbagai tempat, sebuah istilah yang ia ciptakan pada tahun 1831.

Mikroskop sederhana yang menggunakan lensa tunggal bisa menghasilkan gambar yang bagus; namun, mikroskop ini juga bisa menghasilkan warna palsu akibat aberasi kromatik, yaitu panjang gelombang cahaya yang berbeda tidak bisa

mencapai fokus yang sama. Aberasi lebih buruk pada mikroskop majemuk pada waktu itu, karena lensa memperbesar aberasi, setidaknya sama besarnya dengan memperbesar gambar. Pada tahun 1733, ahli optik amatir Inggris, Chester Moor Hall, menemukan melalui uji coba, bahwa kombinasi lensa kaca cembung dan lensa kaca cekung dapat membantu mengoreksi aberasi kromatik pada teleskop, dan pada tahun 1774, Benjamin Martin dari London menghasilkan seperangkat lensa perintis yang dikoreksi warnanya untuk digunakan pada mikroskop.

Munculnya berbagai jenis kacamata optik baru mendorong pengembangan mikroskop secara terus-menerus pada abad ke-19, dan perbaikan yang cukup besar dilakukan dalam memahami optik geometris pembentukan gambar. Konsep objektif mikroskop akromatik (tidak mendistorsi warna) akhirnya diperkenalkan pada tahun 1791 oleh ahli optik Belanda, Francois Beeldsnijder, dan ilmuwan Inggris, Joseph Jackson Lister pada tahun 1830, yang mempublikasikan sebuah karya yang menjelaskan pendekatan teoritis terhadap desain objektif mikroskop yang lengkap. Fisika konstruksi lensa diteliti oleh fisikawan Jerman, Ernst Abbe. Pada tahun 1868, ia menemukan sistem lensa apokromatik, yang memiliki koreksi warna yang lebih baik daripada lensa akromatik, dan pada tahun 1873, ia mempublikasikan analisis komprehensif tentang teori lensa. Mikroskop cahaya yang diproduksi pada seperempat akhir abad ke-19 mencapai batas efektif mikroskop optik. Instrumen berikutnya, seperti mikroskop fase kontras, mikroskop interferensi, dan mikroskop konfokal, memecahkan masalah spesifik yang muncul selama mempelajari spesimen, seperti sel hidup (Ford & Shannon, 2023).

## **B. Jenis-Jenis Mikroskop**

Ada beberapa jenis mikroskop yang digunakan dalam bidang mikrobiologi, di antaranya:

### **1. Mikroskop Cahaya**

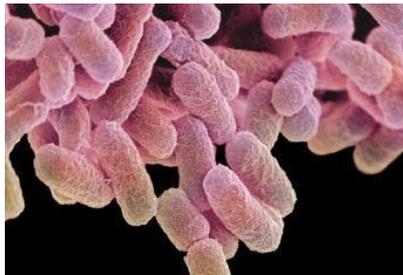
Jenis mikroskop ini menggunakan cahaya untuk memperbesar dan memperjelas gambar sampel biologis.

Mikroskop cahaya digunakan untuk mengamati sel-sel bakteri dan struktur lainnya. Mikroskop cahaya akan dijelaskan lebih rinci pada sub bab berikutnya

## 2. Mikroskop Elektron

Jenis mikroskop ini menggunakan elektron untuk memperbesar dan memperjelas gambar sampel biologis. Mikroskop elektron digunakan untuk mengamati struktur internal bakteri dan virus. Mikroskop elektron mempunyai resolusi yang sangat tinggi dimana objek yang dapat terlihat mencapai ukuran 0,001 mikron atau 1 mm.

Berkas elektron melewati spesimen dan hamburan elektron ini menghasilkan bayangan. Mikroskop elektron memberikan perbesaran yang jauh lebih besar dibandingkan dengan mikroskop cahaya. Panjang gelombang berkas-berkas elektron yang sangat pendek menghasilkan daya pisah yang lebih besar dibandingkan dengan menggunakan cahaya. Perbesaran akhir yang mendekati 1.000.000 kali dapat diperoleh dengan menggunakan mikroskop elektron.

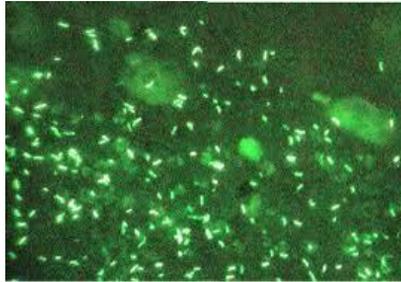


Gambar 5. 1. *E. Coli* dilihat dengan Mikroskop Elektron  
(sumber: <https://biologimediacentre.com>)

## 3. Mikroskop Fluorescent

Jenis mikroskop ini menggunakan cahaya yang dihasilkan oleh zat pewarna *fluorescent* untuk melabeli dan melacak komponen spesifik dalam sel bakteri. Beberapa senyawa kimia dapat menyerap energi dari gelombang ultraviolet dan mengeluarkannya sebagai gelombang tampak dengan panjang gelombang yang lebih tinggi. Senyawa yang mempunyai sifat demikian disebut bersifat *fluorescent*.

Mikroskop *fluorescent* dapat melihat suatu objek yang bersifat fluoresen yang disebabkan adanya senyawa fluoresen alami, atau objek tersebut telah diberi perlakuan dengan zat warna *fluorescent*. Teknik mikroskop *fluorescent* sering digunakan untuk mengamati bakteri tuberkulosa dengan menggunakan zat warna *fluorescent* auramin O. Bakteri tuberkulosa akan mengikat zat warna tersebut dan terlihat terang dengan latar belakang gelap. Kebanyakan bakteri lainnya tidak dapat mengikat zat warna auramin O.



Gambar 5. 2. *M. Tuberculosis* dilihat dengan Mikroskop Fluorescent (sumber: <https://www.researchgate.net>)

#### 4. Mikroskop Medan Gelap

Mikroskop medan gelap adalah suatu mikroskop dengan sistem kondensornya diubah sedemikian rupa supaya sinar yang datang dapat mencapai objek dari samping, sehingga sinar dibelokkan secara refleksi dan refraksi oleh objek yang akan terlihat. Sinar yang menyebar tersebut akan melalui lensa objektif, sehingga objek akan terlihat terang dengan latar belakang gelap. Penggunaan mikroskop medan gelap memungkinkan pengguna melihat partikel atau sel yang ukuran di luar batas resolusi mikroskop sederhana, misalnya dalam mengamati *Treponema pallidum*.

#### 5. Mikroskop Fase Kontras

Mikroskop kontras dibuat pertama kali oleh Fritz Zernike. Jenis mikroskop ini menggunakan perbedaan fase cahaya untuk memperjelas gambar sampel biologis. Pada

lensa objektif dipasang suatu cincin fase yang akan mengubah fase sinar yang melaluinya. Sinar yang telah melewati objek dan tidak dibelokkan akan menembus cincin fase dan terlihat oleh mata sebagai sinar putih yang normal.

Sinar yang melewati objek dengan indeks refraksi berbeda dengan medium di sekelilingnya, akan dibelokkan dan mempunyai berkas sinar yang lebih panjang. Karena perbedaan indeks refraksi antara sel dengan medium di sekelilingnya, maka bayangan dapat terlihat secara lebih kontras. Pada kebanyakan mikroskop kontras, bayangan terlihat gelap dengan latar belakang terang.



Gambar 5. 3. Tampilan Objek dengan Mikroskop Medan Gelap dan Fase Kontras  
(Sumber: <https://www.microbeholic.com>)

## 6. Mikroskop Ultraviolet

Mikroskop ultraviolet (mikroskop UV) dapat menghasilkan resolusi dan perbesaran yang lebih tinggi dibandingkan mikroskop biasa. Hal ini disebabkan mikroskop UV mempunyai Panjang gelombang yang lebih pendek, yaitu 180 - 400 nm (biasanya digunakan 230 - 350 nm), sehingga akan menghasilkan resolusi sekitar dua kali lebih tinggi daripada mikroskop biasa.

Karena sinar UV merupakan sinar tidak tampak, maka bayangan baru dapat dilihat dengan mencatatnya pada suatu lempeng fotografik. Pencatatan bayangan pada lempeng fotografik menggunakan tabung pengubah bayangan, atau dengan memperlihatkan pada layar televisi setelah

ditangkap oleh suatu tabung foto atau kamera televisi yang sensitif terhadap sinar UV (Boleng, 2015).

### **7. Mikroskop Interferensi**

Mikroskop interferensi menghasilkan gambar menggunakan perbedaan antara berkas interferensi yang tidak dimodifikasi oleh spesimen dan berkas identik yang meneranginya. Pemisah berkas membagi cahaya menjadi dua jalur, salah satunya melalui spesimen sementara jalur lain melewatinya. Ketika kedua sinar digabungkan, interferensi yang dihasilkan di antara keduanya akan menunjukkan struktur spesimen.

### **8. Mikroskop Konfokal**

Fitur utama mikroskop *confocal* adalah, hanya apa yang berada dalam fokus yang terdeteksi, dan apa pun yang berada di luar fokus akan tampak hitam. Hal ini dicapai dengan memfokuskan sumber cahaya, biasanya laser, pada suatu titik dan mendeteksi gambar melalui lubang kecil. Karena hanya cahaya dari titik fokus yang berkontribusi pada gambar akhir dalam sistem *confocal*, maka sistem ini khususnya berguna untuk menguraikan struktur spesimen biologis yang halus dan tiga dimensi.

Dalam mikroskop *confocal* pemindaian laser (LSCM), titik fokus laser dipindai melintasi spesimen untuk membangun bagian optik dua dimensi. Gambar tiga dimensi dapat direkonstruksi dengan mengambil serangkaian gambar dua dimensi pada kedalaman fokus yang berbeda dalam spesimen (dikenal sebagai seri-Z) (Ford & Shannon, 2023).

## **C. Komponen Mikroskop Cahaya**

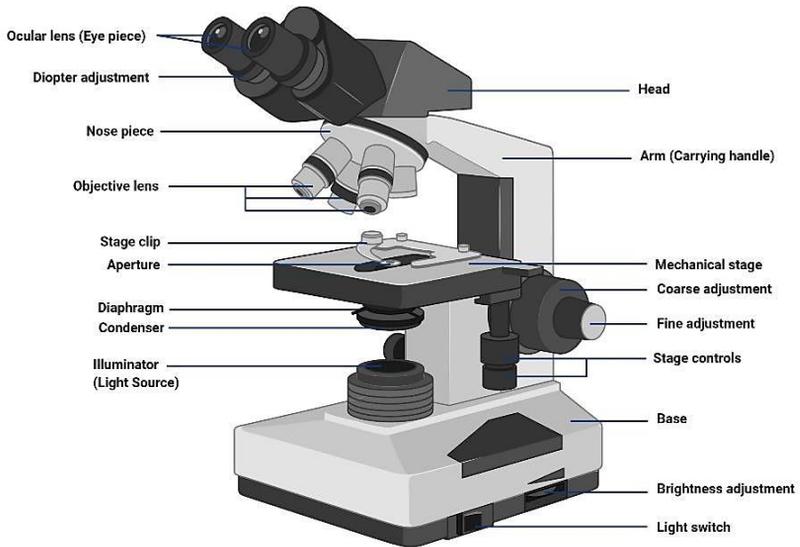
Mikroskop cahaya majemuk (*Brightfield microscope*) terdiri dari beberapa bagian seperti yang ditampilkan pada Gambar 5.4.

1. *Eyepiece (Ocular lens)* - memiliki dua lensa okuler di bagian atas mikroskop yang memfokuskan gambar dari lensa

objektif. di sinilah Anda melihat gambar yang terbentuk, dengan mata Anda.

Pada mikroskop binokuler, kita dapat mengubah jarak antara okuler dan membuat perubahan dioptri untuk mata pengguna yang berbeda-beda. Pada sebagian besar mikroskop, jarak antar okuler diubah hanya dengan menarik atau mendorong okuler.

Untuk menyesuaikan diopter, pertama-tama, kita memfokuskan dengan mata kanan saja. Tanpa menyentuh kenop pemfokusan, penyesuaian dioptri kemudian dilakukan pada mata kiri dengan memutar cincin penyesuaian dioptri (*diopter adjustment*) yang bergigi pada okuler kiri sampai gambar yang tajam terlihat. Setelah pengaturan kanan dan kiri selesai, gambar yang tajam dapat dilihat dengan kedua mata.



Gambar 5. 4. Bagian-Bagian *Brightfield Microscope*  
(Sumber: microbenotes.com)

2. **Objective lenses** - Lensa objektif yang terdiri dari enam atau lebih lensa kaca, yang membuat gambar yang jelas dari spesimen atau objek yang sedang difokuskan.

3. **Focusing knobs** - Dua kenop pemfokusan, yaitu kenop penyetelan halus (*fine adjustment*) dan kenop penyetelan kasar (*coarse adjustment*) yang disusun secara konsentris pada pada lengan mikroskop. Kenop ini digunakan untuk menyesuaikan tampilan objek pada slide menjadi lebih fokus ketika diamati.
4. **Mechanical stage** - Meja preparat terletak tepat di bawah lensa objektif dan di sinilah spesimen ditempatkan dan posisinya dapat disesuaikan untuk tampilan yang lebih baik dengan kenop fleksibel.
5. **Condensor** - Kondensor dipasang di bawah *stage* yang memfokuskan seberkas cahaya ke spesimen. Kondensor dapat dipasang tetap atau dapat digerakkan, untuk menyesuaikan kualitas cahaya, tetapi hal ini sepenuhnya tergantung pada mikroskop.
6. **Arm (carrying handle)** - Ini adalah tulang punggung logam yang kokoh pada mikroskop, yang digunakan untuk membawa dan memindahkan mikroskop dari satu tempat ke tempat lain. Lengan ini juga menahan alas mikroskop yang merupakan penyangga mikroskop. Lengan dan alas memegang semua bagian mikroskopis.
7. **Illuminator (light source)** - Pada sebagian besar mikroskop, terdapat lampu sebagai sumber cahaya yang diposisikan di bagian dasar mikroskop. Idealnya, lampu harus memiliki kontrol intensitas Cahaya (*brightness adjustment*) untuk mengatur tegangan yang disuplai ke bola lampu.
8. **Nosepiece** - Bagian ini memiliki sekitar dua hingga lima lensa objektif dengan daya perbesaran yang berbeda-beda. Nosel ini bisa bergerak ke posisi apa pun, tergantung pada lensa objektif untuk memfokuskan pada gambar.
9. **Diaphragm (contrast)** - Bagian ini mengontrol diameter berkas cahaya yang melewati kondensor. Apabila diafragma hampir tertutup, cahaya masuk ke bagian tengah kondensor sehingga menciptakan kontras yang tinggi, dan apabila diafragma terbuka lebar, gambar akan sangat cerah dengan kontras yang sangat rendah. (Mokobi, 2022)

## 1. Sistem Lensa

Semua mikroskop majemuk memiliki tiga sistem lensa yang terdiri dari lensa okuler, lensa objektif, dan kondensor. Lensa objektif diletakkan di dekat objek atau sediaan (preparat) yang akan diamati. Sedangkan lensa okuler diletakkan di atas di dekat mata, saat kita mengoperasikan mikroskop.

Banyak mikroskop modern memiliki dua lensa okuler. Mikroskop yang memiliki dua lensa okuler disebut mikroskop binokuler. Sedangkan mikroskop yang memiliki satu lensa okuler disebut monokular.

Lensa objektif bekerja mengatur fokus sinar lampu pada objek yang ditempatkan di belakang titik fokal  $F_1$  dan memperbesar objek sehingga menghasilkan bayangan nyata yang diproyeksikan pada bidang fokal dari lensa okuler. Bayangan nyata yang terletak di depan titik fokal  $F_1$  dari lensa okuler, diperbesar oleh lensa okuler sehingga membentuk bayangan maya (bayangan semu) yang dapat dilihat oleh mata. Dengan demikian, total perbesaran merupakan hasil dari perbesaran lensa objektif dan lensa okuler.

Untuk memperoleh berbagai tingkat perbesaran, setiap mikroskop pada umumnya dilengkapi dengan tiga kelompok lensa objektif, yang dipasang pada *nosepiece* yang dapat diputar, yaitu terdiri dari:

- a. Lensa objektif berkekuatan rendah (*low power*, 16 mm), yang ditandai dengan angka 10X pada bagian luarnya, dan mempunyai jarak kerja 5 - 8,3 mm.
- b. Lensa objektif berkekuatan tinggi (*high dry*, 4 mm), yang ditandai dengan angka 40X, 43X, 44X, atau 45X, dan mempunyai jarak kerja 0,46 - 0,72 mm.
- c. Lensa objektif minyak imersi (*immersion oil*, 1,8 mm), yang ditandai dengan angka 95X, 97X, atau 100X, dan mempunyai jarak kerja 0,13 - 0,14 mm.

Angka 16 mm, 4 mm, dan 1,8 mm, menunjukkan panjang fokal pada masing-masing lensa, yaitu jarak antara lensa dengan titik fokal lensa (F1 dan F2). Jika lensa okuler mempunyai perbesaran 10X, maka total perbesaran harus dikalikan 10X (untuk lensa objektif berkekuatan 10X), sehingga total perbesaran menggunakan lensa berkekuatan rendah menjadi 100X. Demikian juga untuk perhitungan perbesaran total, pada penggunaan lensa objektif berkekuatan tinggi.

Sistem lensa ketiga adalah kondensor, yang terletak di bawah stage/meja preparat. Kondensor mengumpulkan dan mengarahkan cahaya dari lampu ke slide yang sedang diamati. Tidak seperti lensa okuler dan objektif, lensa kondensor tidak mempengaruhi daya perbesaran mikroskop majemuk.

Adanya lampu dan kondensor, akan mengatur iluminasi dari objek secara tepat. Besarnya sinar yang melalui lensa objektif berbeda untuk setiap jenis lensa. Jika perbesaran lensa objektif naik, jarak kerja lensa menurun, dan sudut apertur objektif bertambah. Oleh karena itu, dengan bertambahnya perbesaran, bertambah banyak sinar yang harus masuk ke lensa objektif.

Besarnya sinar yang masuk, diatur oleh iris diafragma yang terletak di antara lensa dan kondensor. Kondensor dapat digerakkan ke atas dan ke bawah dengan knop di bawah stage. Diafragma di dalam kondensor mengatur jumlah cahaya yang mencapai slide. Mikroskop yang tidak memiliki kontrol tegangan bergantung sepenuhnya pada sumber cahaya pada diafragma untuk mengontrol intensitas cahaya. Diafragma dikendalikan dengan cara memutar cincin *knurled diaphragm control* atau dengan mengatur tuas diafragma (Benson, 2001; Boleng, 2015).

## D. Prosedur Penggunaan Mikroskop Cahaya

Jika mikroskop terdiri atas tiga lensa objektif, maka terdapat tiga pilihan pembesaran yaitu pembesaran berkekuatan rendah (*low-power*), berkekuatan tinggi (*high-dry magnification*), dan perbesaran dengan lensa objektif *oil immersion*.

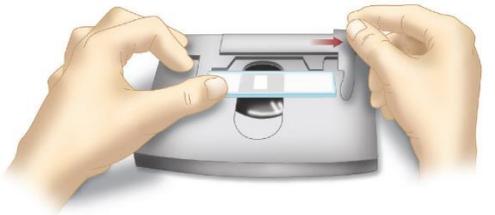
Penggunaan objektif berdaya rendah atau objektif *oil immersion* bergantung pada seberapa banyak pembesaran yang diperlukan. Meskipun demikian, secara umum, sebaiknya mulai dengan objektif berdaya rendah dan lanjutkan ke perbesaran yang lebih tinggi. Berikut merupakan petunjuk untuk menyiapkan dan melakukan pengamatan dengan mikroskop.

### 1. Pembesaran Berkekuatan Rendah

Alasan utama untuk memulai dengan objektif daya rendah adalah agar pengguna dapat menjelajahi slide untuk mencari objek yang akan dipelajari. Setelah pengguna menemukan apa yang dicari, pengguna dapat melanjutkan ke perbesaran yang lebih tinggi.

Gunakan langkah-langkah berikut ini ketika menjelajahi slide dengan dengan lensa objektif daya rendah:

- a. Posisikan slide di atas meja preparat dengan objek yang akan dipelajari pada permukaan atas slide. Gambar 5.5 mengilustrasikan bagaimana slide harus ditahan pada tempatnya oleh tuas penahan meja preparat.



Gambar 5. 5. Memasang Slide pada Meja Preparat  
(Sumber: Benson, 2001)

- b. Nyalakan sumber cahaya, dengan menggunakan voltase minimum. Jika perlu, atur ulang posisi slide sehingga bahan yang diwarnai pada slide berada tepat di tengah-tengah sumber cahaya.

- c. Periksa kondensor untuk memastikan bahwa kondensor telah dinaikkan ke titik tertingginya.
- d. Jika objektif berdaya rendah tidak secara langsung berada di bagian tengah meja preparat, putarlah ke posisinya. Pastikan saat objektif diputar ke posisinya, objektif tepat pada posisi terkunci.
- e. Putar kenop/sekrup penyesuaian kasar untuk menaikkan meja preparat sampai berhenti. Penghenti built-in akan mencegah objektif menyentuh slide.
- f. Sambil melihat melalui lensa okuler, atur tampilan objek hingga mencapai fokus dengan memutar knop penyesuaian halus. Jangan menyetel ulang kenop penyesuaian kasar. Jika menggunakan mikroskop dengan dua lensa okuler (mikroskop teropong), pengguna juga perlu menyesuaikan jarak antar okuler dan penyesuaian dioptri agar sesuai dengan mata pengguna.
- g. Untuk melihat secara optimal, fokuskan kondensor dan atur pencahayaan maksimum. Prosedur ini harus dilakukan setiap kali lensa objektif diganti. Mula-mula naikkan iris diafragma ke posisi tertinggi. Tutup iris diafragma hingga tepi gambar diafragma tampak kabur. Turunkan kondensor dengan menggunakan kenop penyetelan kondensor sampai tepi gambar diafragma menunjukkan fokus yang tajam. Pada posisi ini sisi-sisi diafragma akan tampak lebih jelas dibandingkan bidang pandang. Fokuskan ulang spesimen dengan menggunakan penyesuaian halus. Perhatikan, bahwa sewaktu Anda menutup iris diafragma untuk mengurangi intensitas cahaya, kontras akan meningkat dan *depth of field* meningkat. *Depth of field* adalah kisaran jarak di depan dan di belakang gambar yang difokuskan. Objek lain di dalamnya akan tampak jernih dan terdefinisi secara tajam.
- h. Setelah gambar terlihat, gerakkan slide untuk mencari apa yang ingin diamati. Slide preparate digerakkan dengan memutar knop yang menggerakkan meja preparat.

- i. Periksa kebersihan okuler, dengan menggunakan prosedur prosedur yang diuraikan sebelumnya.
- j. Setelah mengidentifikasi struktur yang akan dipelajari dan ingin meningkatkan pembesaran, pengguna dapat melanjutkan ke perbesaran tinggi atau perbesaran dengan *oil immersion*. Namun, sebelum mengubah lensa objektif, pastikan untuk memfokuskan objek yang ingin diamati.

## 2. Pembesaran Berkekuatan Tinggi

Untuk melanjutkan dari daya rendah ke perbesaran kering tinggi, yang perlu dilakukan hanyalah putar objektif kering tinggi ke posisinya dan buka sedikit diafragma. Mungkin diperlukan pula sedikit penyesuaian pada pengaturan fokus halus untuk mempertajam gambar, tetapi knop pengaturan fokus kasar tidak boleh disentuh.

Mikroskop modern berkualitas bagus umumnya merupakan mikroskop *parfocal* dan *parcentral* sehingga gambar akan tetap berada di tengah dan dalam fokus ketika dilakukan perubahan dari daya lensa yang lebih rendah ke daya yang lebih tinggi.

Bila melakukan peningkatan pencahayaan, pastikan untuk membuka diafragma terlebih dulu alih-alih meningkatkan voltase pada lampu sehingga masa pakai lampu sangat diperpanjang apabila digunakan pada voltase rendah. Jika lapang pandang tidak cukup terang setelah membuka diafragma, pengaturan Cahaya dapat dilanjutkan dengan meningkatkan voltase. Poin terakhir yang perlu diperhatikan adalah senantiasa menjaga kondensor pada titik tertinggi.

## 3. Pembesaran dengan Lensa Minyak Imersi

Lensa *oil immersion* (pencelupan minyak) mendapatkan namanya dari fakta bahwa minyak khusus disisipkan di antara spesimen dan lensa objektif 100×. Hal ini dapat mengurangi pembiasan cahaya dan memaksimalkan *aperture numerik* untuk meningkatkan resolusi. Penggunaan

minyak dengan cara ini meningkatkan daya resolusi mikroskop.

Dengan objektif *parfocal*, seseorang dapat langsung menuju ke pencilupan minyak baik dari daya rendah maupun daya tinggi. Pada beberapa mikroskop, lebih baik lakukan peralihan secara bertahap dari daya rendah ke daya tinggi kemudian ke perendaman minyak. Ketika mikroskop telah berada pada posisi fokus di salah satu pembesaran, lensa perendaman minyak dapat diputar ke posisinya tanpa takut mengenai slide.

Namun, sebelum memutar lensa pencilupan minyak ke posisinya, tambahkan satu tetes *oil immersion* pada slide. Lensa pencilupan minyak tidak boleh digunakan tanpa minyak. Jika minyak tampak keruh, maka minyak harus dibuang.

Apabila menggunakan lensa pencilupan minyak, diperlukan lebih banyak cahaya untuk memvisualisasikan gambar secara memadai. Membuka diafragma akan meningkatkan daya pisah mikroskop pada pembesaran yang lebih tinggi. Oleh karena itu, iris diafragma harus dibuka lebih lebar apabila menggunakan lensa pencilupan minyak. Selain itu, jangan lupa untuk memfokuskan ulang kondensor apabila berpindah objektif dari daya yang lebih rendah ke daya yang lebih tinggi. Sebagian mikroskop juga menggunakan filter biru atau hijau pada rumah lampu untuk meningkatkan daya resolusi.

Penting untuk dipahami bahwa jarak antara lensa dan slide mikroskop berkurang secara signifikan seiring dengan meningkatnya perbesaran lensa. Oleh karena itu, potensi kerusakan pada lensa pencilupan minyak akibat benturan dengan slide mikroskop, sangat besar. Poin terakhir yang perlu diperhatikan adalah pada akhir sesi penggunaan mikroskop, bersihkan semua minyak imersi dari ujung lensa dengan tisu lensa (Benson, 2001).

#### 4. Mengembalikan Mikroskop ke Tempat Semula

Beberapa tindakan perawatan di akhir sesi penggunaan mikroskop akan memastikan mikroskop senantiasa dalam kondisi bersih dan berfungsi optimal. Periksa hal-hal berikut ini sebelum mengembalikan mikroskop ke dalam kabinet (Benson, 2001; Permenkes No.43, 2013).

- a. Pastikan slide telah dilepaskan dari meja preparat.
- b. Jika menggunakan *oil immersion*, seka lensa dan meja preparat dengan tisu lensa. Pastikan tidak ada minyak imersi pada objektif 40×. Lensa ini sering kali terkontaminasi dengan minyak akibat kesalahan penggunaan. Jangan menyeka minyak dari slide yang ingin disimpan. Cukup masukkan ke dalam kotak slide dan biarkan minyak mengering dengan sendirinya.
- c. Putar objektif berdaya rendah ke posisinya.
- d. Selalu kembalikan mikroskop ke posisi tegak.
- e. Jika mikroskop memiliki lampu yang dapat digerakkan, naikan lampu ke posisi tertinggi.
- f. Jika mikroskop memiliki kabel listrik panjang, kabel dapat dililitkan di sekeliling alas mikroskop.
- g. Sesuaikan meja preparat pada posisi terdekat dengan lengan mikroskop.
- h. Pasang kembali penutup debu.
- i. Kembalikan mikroskop ke tempat yang benar di dalam kabinet.
- j. Simpan mikroskop di tempat yang rendah kelembabannya, dapat dengan cara memberikan penerangan lampu wolfram atau dengan silika gel.

Beberapa tindakan perawatan di akhir sesi penggunaan mikroskop akan memastikan mikroskop senantiasa dalam kondisi bersih dan berfungsi optimal. Periksa hal-hal berikut ini sebelum mengembalikan mikroskop ke dalam kabinet (Benson, 2001; Permenkes No.43, 2013).

## E. Perawatan Mikroskop Cahaya

Semua mikroskop medan terang memiliki kesamaan tertentu, namun terdapat sedikit perbedaan dalam hal mekanis operasi. Mikroskop merupakan investasi yang cukup besar dan dapat rusak dengan mudah jika tindakan pencegahan tidak diperhatikan dengan baik

### 1. Pengangkutan

Saat memindahkan mikroskop, gunakan kedua tangan untuk memegang instrumen. Satu tangan memegang lengan mikroskop dan tangan lainnya menopang dasar mikroskop. Letakkan mikroskop di tempat yang datar dan tidak licin.

### 2. Kerapihan

Jaga agar meja kerja Anda tetap rapi saat menggunakan mikroskop. Jauhkan benda-benda yang tidak perlu dari area kerja. Area kerja yang bersih meningkatkan efisiensi dan mengurangi kecelakaan.

### 3. Kabel Listrik

Mikroskop dapat jatuh dari atas meja ketika kaki terjatoh kabel listrik. Jangan biarkan kabel listrik mikroskop menjuntai sedemikian rupa sehingga berisiko terjatoh.

### 4. Perawatan Lensa

Periksa lensa untuk memastikan lensa dalam keadaan bersih sebelum mikroskop digunakan, dan pastikan untuk menyeka sisa *immersion oil* dari lensa setelah mikroskop selesai digunakan.

### 5. Perlindungan Debu

Di sebagian besar laboratorium, penutup debu digunakan untuk melindungi instrumen selama penyimpanan. Jika tersedia, tutup mikroskop dengan penutup debu di setiap akhir sesi penggunaan mikroskop.

#### 1. Perawatan Lensa

Menjaga lensa mikroskop tetap bersih adalah hal yang harus diperhatikan secara konstan. Lensa tidak dapat mencapai tingkat resolusi yang diinginkan jika tidak dijaga agar terbebas dari debu, minyak, dan kontaminan lainnya.

Berikut merupakan petunjuk membersihkan lensa dan berbagai komponen lensa:

**a. Membersihkan dengan Tisu**

Untuk membersihkan lensa sebaiknya hanya menggunakan tisu yang bebas serat dan aman secara optik. Untuk tujuan ini, umumnya digunakan tisu lensa. Meskipun beberapa jenis tisu lainnya juga aman, namun pastikan hanya menggunakan jenis tisu yang direkomendasikan oleh instruktur/penanggung jawab laboratorium.

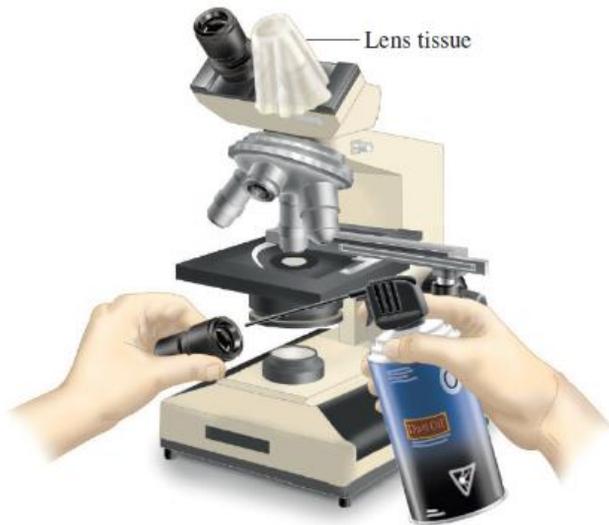
**b. Pelarut**

Berbagai cairan dapat digunakan untuk membersihkan lensa mikroskop. Sabun hijau dengan air hangat bekerja dengan sangat baik. *Xylene* dapat diterima secara universal. Alkohol dan aseton juga direkomendasikan, tetapi sering dengan beberapa syarat. Aseton adalah pelarut yang kuat yang mungkin bisa melarutkan semen pemasangan lensa pada sebagian lensa objektif jika digunakan terlalu banyak. Selalu ikuti petunjuk Instruktur tentang pelarut apa yang dapat digunakan pada lensa mikroskop anda.

**c. Lensa Okuler**

Cara terbaik untuk menentukan bersih atau tidaknya lensa okuler adalah dengan memutarinya di antara ibu jari dan telunjuk sambil melihat melalui mikroskop. Jika tampak pola yang berputar, hal tersebut menunjukkan adanya kotoran pada lensa.

Jika dengan cara membersihkan bagian atas lensa okuler menggunakan tisu lensa tidak berhasil menghilangkan kotoran, maka coba bersihkan lensa bawah dengan tisu lensa dan meniup serat yang tersisa dengan udara dari *syringe* atau menggunakan *gas canister*. Sangat penting untuk menempatkan sepotong tisu lensa di ujung mikroskop yang terbuka ketika lensa okuler dilepaskan dari mikroskop seperti yang diilustrasikan pada gambar 5.6



Gambar 5. 6. Membersihkan Lensa Okuler  
(Sumber: Benson, 2001)

**d. Objektif**

Lensa objektif sering kali menjadi kotor oleh bahan dari slide atau jari. Sepotong tisu lensa dibasahi dengan sabun hijau dan air, atau salah satu pelarut yang disebutkan sebelumnya, biasanya akan menghilangkan apa pun yang ada pada lensa. Kadang-kadang kapas yang dibasahi dengan pelarut akan bekerja lebih baik daripada tisu lensa. Ketika tampilan objek pada slide tidak jelas atau keruh, dapat diasumsikan bahwa lensa objektif kotor.

**e. Kondensor**

Debu sering menumpuk pada permukaan atas kondensor. Oleh karena itu, sesekali menyeka permukaan atas kondensor dengan tisu lensa perlu dilakukan (Benson, 2001).

**F. Prosedur Kalibrasi Mikroskop Cahaya**

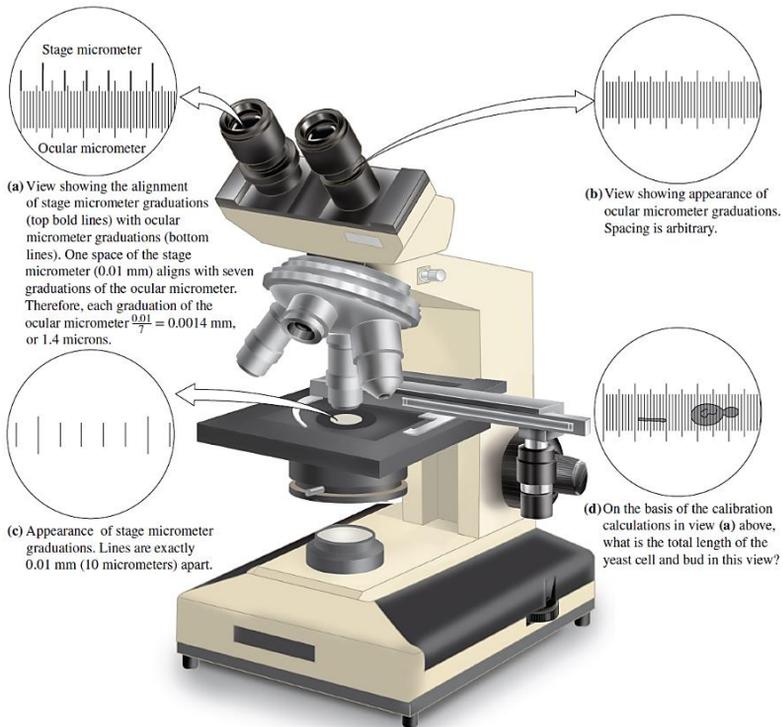
Jarak antara garis-garis mikrometer okuler adalah nilai sembarang yang memiliki arti hanya jika mikrometer okuler dikalibrasi sesuai dengan objektifnya yang digunakan.

Mikrometer stage, juga juga dikenal sebagai mikrometer objektif, memiliki garis-garis yang tertulis pada permukaannya yang berjarak 0,01 mm (10  $\mu\text{m}$ ). Ilustrasi (c), gambar 6.7, menunjukkan gradasi ini.

Untuk mengkalibrasi mikrometer okuler untuk objektif tertentu, perlu dilakukan superimposisi dua skala dan tentukan berapa banyak gradasi okuler yang sesuai dengan satu gradasi pada skala stage mikrometer. Ilustrasi (a) pada gambar 6.7 menunjukkan bagaimana dua skala muncul ketika mereka disejajarkan dengan benar dalam bidang mikroskopis. Pada kasus ini, tujuh segmen okuler cocok dengan satu segmen mikrometer stage 0,01 mm untuk memberikan nilai okuler  $0,01/7$ , atau 0,00143 mm. Karena ada 1000 mikrometer dalam 1 milimeter, segmen ini terpisah 1,43  $\mu\text{m}$ .

Dengan mengetahui informasi ini, mikrometer stage diganti dengan slide organisme yang akan diukur. Ilustrasi (d), gambar 6.7, menunjukkan bagaimana tampilan lapang pandang mikroorganisme dengan mikrometer okuler di lensa okuler. Untuk menentukan ukuran suatu organisme, maka, itu adalah perkara yang mudah untuk menghitung gradasi dan mengalikan angka ini dengan jarak yang diketahui antara gradasi. Ketika mengkalibrasi objektif mikroskop, ikuti langkah sebagai berikut.

1. Jika tersedia lensa okuler yang mengandung mikrometer okuler, ganti lensa okuler pada mikroskop dengan lensa okuler tersebut. Jika perlu menyisipkan mikrometer okuler pada lensa okuler, pastikan dimana mikrometer okuler akan disisipkan. Dalam kedua kasus tersebut, pengguna harus sangat berhati-hati untuk menghindari menjatuhkan *eye piece* atau memasang kembali lensa secara tidak benar. Pastikan bahwa garis-garis gradasi berada di permukaan atas cakram kaca.



Gambar 5. 7. Kalibrasi Mikrometer Okuler  
(Sumber: Benson, 2001)

2. Letakkan mikrometer meja pada mikroskop stage dan pusatkan tepat di atas sumber cahaya.
3. Letakkan objektif berdaya rendah (10×) pada posisinya, arahkan gradasi mikrometer stage ke dalam fokus dengan menggunakan kenop penyetelan kasar. Kurangi pencahayaan.
4. Putar eyepiece sampai gradasi mikrometer okuler sejajar dengan garis-garis mikrometer panggung.
5. Jika objektif berdaya rendah adalah objektif yang akan dikalibrasi, lanjutkan ke langkah 8.
6. Jika objektif daya tinggi yang akan dikalibrasi, geser ke posisinya dan lanjutkan ke langkah 8.
7. Jika lensa minyak imersi yang akan dikalibrasi, letakkan setetes minyak imersi pada *stage micrometer*, putar lensa

minyak imersi pada posisinya, dan bawa garis-garisnya ke dalam fokus, lalu lanjutkan ke langkah berikutnya.

8. Gerakkan *stage micrometer* ke arah lateral hingga garis pada salah satu ujungnya berimpit. Kemudian, cari garis lain pada mikrometer okuler yang berhimpitan persis dengan garis pada *stage micrometer*. Adakalanya, satu segmen stage mikrometer akan mencakup jumlah segmen okuler yang genap, seperti yang ditunjukkan dalam ilustrasi (a) pada gambar 6.7. Namun, dalam kebanyakan kasus, akan ada beberapa gradasi stage yang dilibatkan. Dalam kasus ini, bagilah jumlah segmen stage mikrometer dengan jumlah segmen okuler yang sesuai.
9. Angka yang Anda dapatkan adalah hasil pembagian *stage micrometer* yang terlihat pada segmen okuler. Nilai ini kemudian dikalikan 0,01 mm untuk mendapatkan nilai masing-masing segmen okuler. Contoh: 3 segmen *stage micrometer* sejajar dengan 20 segmen mikrometer okuler.

$$\begin{aligned}\text{Nilai masing-masing segmen okuler} &= \frac{3}{20} \times 0,01 \\ &= 0,0015 \text{ mm} \\ &= 1,5 \mu\text{m}\end{aligned}$$

Selanjutnya ganti *stage micrometer* dengan slide organisme yang akan diukur (Benson, 2001).

## DAFTAR PUSTAKA

- Benson. (2001). *Microbiological Applications Lab Manual in General Microbiology* (Jean Fornango Jim Smith, Ed.; Eighth Edition). The McGraw-Hill Companies.
- Boleng, D. T. (2015). *Bakteriologi Konsep-Konsep Dasar*. Universitas Muhammadiyah Malang. <http://ummpress.umm.ac.id>
- Ford, B. J., & Shannon, R. R. (2023, November 5). *Microscope Instrument*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/technology/microscope>
- Mokobi, F. (2022, April 15). *Brightfield Microscope (Compound Light Microscope)- Definition, Principle, Parts*. Microbe Notes. <https://microbenotes.com/brightfield-microscope/>
- Permenkes No.43. (2013). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2013 Tentang Cara Penyelenggaraan Laboratorium Klinik yang Baik*.

# BAB 6 | MEKANISME INFEKSI VIRUS

Dwi Setianingtyas., drg., Sp PM (K).

## A. Pendahuluan

Infeksi adalah invasi ke jaringan tubuh inang atau *hospes* oleh organisme penyebab penyakit yang diikuti dengan memperbanyak diri dari organisme atau racun yang dihasilkannya. Infeksi dapat disebabkan oleh mikroba sebagai *agent* infeksi, antara lain: bakteri, jamur, parasit, dan virus (Soedarto, 2015).

Virus merupakan mikroorganisme yang terkecil ukurannya, pada umumnya lebih kecil dari 399 nm (nanometer), 1 nm = 1 milimikron = satu per satu juta milimeter = satu perseribu mikron. Berbeda dengan bakteri yang setiap individu sel masing-masing mempunyai asam nukleat lengkap, yaitu RNA (*ribonucleid acid*) dan DNA (*deoxyribonucleid acid*). Setiap sel virus hanya mempunyai satu jenis asam nukleat saja, RNA saja atau DNA saja. Dalam perkembangbiakannya, virus juga berbeda dengan mikroorganisme lainnya, virus tidak berkembang biak dengan membelah diri (Soedarto, 2015)

Virus mendapatkan turunan dengan cara replikasi (Misnadiarly and Djajaningrat, 2014). Selain itu virus hanya dapat hidup didalam sel (obligat intraseluler), sehingga tidak dapat dibiakkan di dalam medium buatan. Virus hanya dapat dibiakkan pada kultur sel (Soedarto, 2015).

Penyakit tertentu dapat disebabkan oleh bermacam virus yang mempunyai jaringan umum *tropism* (pilihan), seperti *hepatitis* (hepar), *common cold* (saluran nafas atas), dan

*encephalitis* (susunan saraf pusat). Kebalikannya, virus tertentu dapat menyebabkan beberapa penyakit yang berbeda atau sama sekali tidak ada gejala yang diobservasi. Misalnya *herpes simplex virus* (HSV) dapat menyebabkan *gingivostomatitis*, *faringitis*, *herpes labialis*, *herpes genitalis*, *encephalitis* atau *keratoconjunctivitis*, bergantung pada jaringan yang terinfeksi. Walaupun umumnya ringan, virus ini dapat mengancam jiwa bila menyerang pada bayi baru lahir, atau orang dengan imunokompromais (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012).

## **B. Sekilas Tentang Virus**

Sebelum membahas lebih jauh mengenai mekanisme infeksi virus, ada baiknya diketahui mengenai beberapa hal mengenai virus.

### **1. Sifat Umum Virus**

Banyak virus mengkode aktivasi (faktor virulensi) yang menyebabkan efisiensi replikasi virus, transmisi virus, jalan masuk dan pengikatan virus pada jaringan target, atau lepasnya virus dari pertahanan pejamu dan resolusi imun. Aktivitas ini mungkin tidak penting untuk pertumbuhan virus dalam kultur jaringan, tetapi penting untuk patogenitas virus dalam pejamu. Hilangnya faktor virulensi ini terjadi pada virus (*attenuation*) (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012).

### **2. Morfologi Virus**

Virus tersusun atas satu jenis asam nukleat (RNA saja atau DNA saja) dan ada yang dikelilingi oleh selubung protein dan ada yang tidak.

Setiap virus memiliki beberapa bagian sebagai berikut:

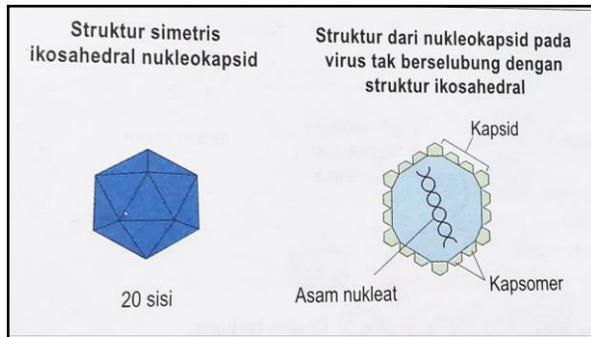
#### **a. Virion.**

Merupakan partikel utuh suatu virus.

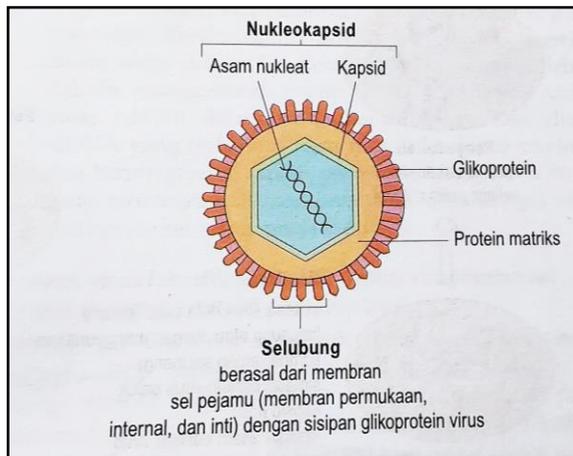
#### **b. Nukleokapsid.**

Merupakan asam nukleat virus yang diliputi oleh selubung protein (kapsid). Nukleokapsid ada yang berselubung dan ada yang tidak.

- c. Kapsid  
Selubung protein yang melapisi asam nukleat
- d. Kapsomer  
Unit atau bagian dari kapsid, yang berbentuk kubus atau spiral (helikal)
- e. Icosahedron  
Bentuk dari nukleokapsid yang tersusun atas beberapa kubus simetri (simetri kubikal) dan terdiri dari nukleokapsid yang kemudian akan membentuk silinder yang tersusun dari sebuah sumbu rotasi dari asam nukleat yang dibatasi beberapa kapsomer (Soedarto, 2015).



Gambar 6. 1. Konstruksi Virus Tidak Berselubung/ *Non Enveloped Virus* (Goering *et al.*, 2019)



Gambar 6. 2. Konstruksi Virus Berselubung/ *Enveloped Virus* (Goering *et al.*, 2019)

### 3. Klasifikasi virus berdasar tipe asam nukleat

#### a. Virus RNA:

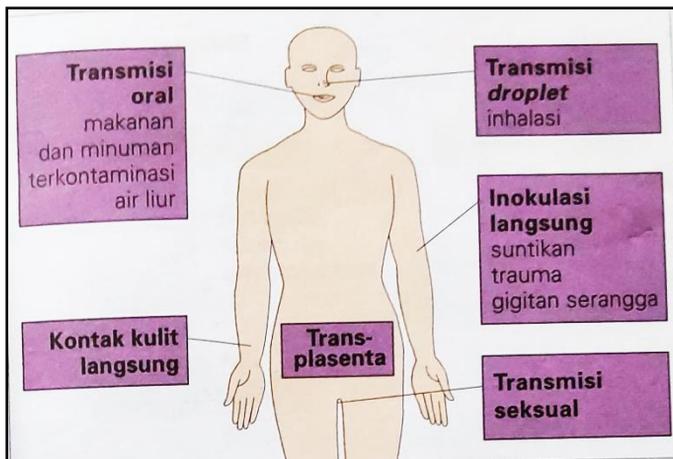
Dalam kelompok virus RNA banyak dijumpai virus yang patogenik terhadap manusia dan hewan. Termasuk dalam golongan virus RNA adalah famili dari: *picornaviridae*, *reovirida*, *togaviridae*, *adrenavieidae*, *coronaviridae*, *retroviridae*, *bunyaviridae*, *orthomyxoviridae*, *paramyxoviridae*, dan *rhabdoviridae*.

#### b. Virus DNA

Termasuk dalam golongan virus DNA adalah famili virus berikut ini: *parvoviridae*, *papovaviridae*, *adenoviridae*, *herpetoviridae*, *iridoviridae*, *poxviridae*, dan *hepadnaviridae* (Soedarto, 2015).

### C. Mekanisme Infeksi Virus

Virus dapat memasuki tubuh melalui tempat masuk (*portal of entry*) yaitu saluran pernapasan, saluran gastrointestinal, saluran urogenital, kulit dan membran mukosa (Soedarto, 2015).



Gambar 6. 3. Portal of entry yang digunakan Virus untuk Memasuki Tubuh (Goering *et al.*, 2019)

#### 4. Transmisi Virus

Virus ditularkan melalui kontak langsung (termasuk kontak seksual), suntikan cairan atau darah yang terkontaminasi, organ transplantasi, serta rute respiratorius dan fekal-oral. Rute transmisi bergantung pada sumber virus (tempat jaringan replikasi dan sekresi virus) dan kemampuan virus untuk menahan bahaya dan *barrier* lingkungan serta rute ke jaringan target. Misalnya virus yang bereplikasi dalam saluran napas (misalnya *influenza A virus*) dibebaskan dalam *droplet aerosol*, sedangkan *enteric virus* (misalnya *picornavirus* dan *reovirus*) lewat melalui rute fekal-oral. *Cytomegalovirus* ditularkan melalui kebanyakan sekret tubuh karena virus ini menginfeksi mukosa epitel, sekret, dan sel lain yang terdapat pada kulit, sekret kelenjar, paru, hepar, serta organ lain.

Terdapat atau tidaknya amplop pada virus merupakan faktor utama dalam transmisi virus. *Nonenveloped virus* dapat bertahan terhadap pengeringan, efek detergen, dan pH serta temperatur yang ekstrim, sedangkan *enveloped virus* umumnya tidak dapat. Specific, kebanyakan *nonenveloped virus* dapat bertahan dalam lingkungan asam lambung dan *detergeny-like bile* usus serta disinfeksi ringan dan terapi pembuangan yang tidak cukup. Virus ini umumnya ditularkan melalui rute respiratorius serta fekal-oral dan sering didapat dari objek terkontaminasi, disebut dengan *fomites*. Misalnya *hepatitis A virus*, suatu *picorna virus*, merupakan virus tidak beramplop ditularkan melalui fekal-oral dari air yang terkontaminasi, kerang-kerangan, serta makanan. *Rhinovirus* dan banyak virus tidak beramplop lain dapat disebarkan melalui kontak dengan *fomites*. Misalnya sapu tangan dan mainan anak. (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012)

Virus beramplop termasuk virus yang mudah pecah. Untuk infektivitas diperlukan amplop yang utuh. Virus beramplop harus tetap basah dan menyebar:

- a. Dalam droplet respiratorius, darah, mukus, saliva, dan semen
- b. Dengan suntikan, atau
- c. Dalam organ transplantasi

Kebanyakan virus beramplop juga labil dalam respons terhadap asam dan detergen. Kecuali HBV dan *coronavirus*.

Binatang juga dapat berperan sebagai vektor yang menyebarkan penyakit virus pada binatang lain serta manusia. Juga dapat sebagai reservoir untuk virus yang memelihara dan memperkuat dalam lingkungan. Penyakit virus yang bersama dengan bagian binatang atau serangga dan manusia disebut zoonosis. Misalnya *raccoons* (binatang seperti kucing) rubah, kelelawar, anjing dan kucing merupakan vektor untuk *togavirus*, *flavivirus*, *bunyavirus*, dan *retrovirus*. Virus ini sering sebagai *arbovirus* karena mereka adalah *arthropod borne*. Kebanyakan *arbovirus* mempunyai rentang pejamu yang luas, mampu melakukan replikasi dalam serangga spesifik, burung, amfibi, dan mamalia, di samping manusia. *Arbovirus* juga ditetapkan pada viremia reservoir binatang, sehingga serangga mendapat virus selama makan darah.

Faktor lain yang dapat menambah transmisi virus adalah infeksi asimtomatik potensial, kondisi hidup yang berdesakan, pekerjaan tertentu, gaya hidup tertentu, *daycare centers*, dan travel. Banyak virus (misalnya HIV, *varicella-zoster virus*) berhasil masuk tubuh sebelum timbul gejala, sehingga sukar untuk membatasi transmisi. Virus yang menyebabkan infeksi produktif persisten (misalnya *cytomegalovirus*, HIV) yang merupakan persoalan karena orang yang terinfeksi merupakan sumber kontinu yang menyebar pada orang imunologik *naïve* (seronegatif). Virus dengan banyak serotipe yang berbeda (*rhinovirus* dan HIV) atau virus yang mampu mengubah antigenitasnya juga mudah didapat pada populasi *naïve*.

## 5. Infeksi Jaringan Target (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012; Soedarto, 2015)

Virus mencapai *entry into the body* melalui *breaks* pada kulit atau melalui membran mukosa epitel yang membatasi lubang tubuh (mata, saluran napas, mulut, genitalia, dan saluran pencernaan). Kulit merupakan *barrier* yang baik terhadap infeksi dan air mata, mukus, silia epitel, asam lambung, empedu, serta IgA memproteksi lubang tersebut. Inhalasi menjadi rute dari *port de entry* paling sering pada infeksi virus.

Pada waktu virus ke dalam tubuh terjadi replikasi dalam sel yang mengekspresi reseptor virus. Banyak virus memulai infeksi dalam mukosa oral atau saluran napas bagian atas. Beberapa tanda penyakit dapat disertai replikasi virus pada tempat primer. Virus dapat melakukan replikasi tetap ditempat primer serta dapat menyebar ke jaringan lain melalui aliran darah atau fagosit *mononuklear*, sistem limfatik, atau neuron.

Aliran darah dan sistem limfatik merupakan transfer virus yang utama dalam tubuh. Virus dapat masuk sesudah terjadi kerusakan jaringan dengan menggunakan fagositosis atau transpor melalui sel mukoeptel orofaring, saluran cerna, vagina atau anus. Beberapa *enteric virus* (*picornavirus* atau *reovirus*) terikat pada reseptor di sel M yang menempatkan virus pada *peyer's patches* sistem limfatik.

Transpor virus dalam darah disebut viremia. Virus dapat bebas dalam plasma atau berhubungan dengan limfosit atau makrofag. Virus yang diambil fagosit makrofag dapat diinaktivasi, dapat melakukan replikasi, atau dikeluarkan ke jaringan lain oleh sistem fagosit *mononuklear*. Replikasi virus dalam makrofag, lapisan endotel pembuluh darah, atau hepar dapat menyebabkan infeksi untuk memulai viremia sekunder. Pada banyak kasus, viremia sekunder mendahului virus ke jaringan target (misalnya hepar dan kulit) dan manifestasi gejala.

Virus dapat mencapai sistem saraf pusat atau otak dari: 1. Aliran darah (misalnya *arboenkephalitis virus*), 2. meningen atau cairan serebrospinal yang terinfeksi, 3. Dengan menggunakan migrasi makrofag terinfeksi, atau 4. Infeksi neuron perifer dan sensori (olfaktori). Virus dalam darah dapat menginfeksi dan mengganggu lapisan sel dan keluar dari pembuluh darah atau melalui *blood-brain barrier* menyebabkan infeksi sistem saraf pusat. Meningen mudah menerima banyak virus yang menyebar melalui viremia yang juga masuk ke dalam neuron. *Herpes simplex*, *varicella zoster*, dan *rabies virus* mulai menimbulkan infeksi mukosa epitel, kulit atau otot, dan lalu neuron perifer yang ditranspor virus ke sistem saraf sentral atau otak.

#### **6. Basic Steps pada Penyakit Virus**

Penyakit virus dalam tubuh mengembangkan langkah persis seperti replikasi dalam sel. Periode inkubasi dapat berjalan tanpa gejala (asimtomatik) atau dapat menimbulkan gejala awal yang nonspesifik, disebut *prodrome*. Gejala penyakit disebabkan oleh kerusakan jaringan dan efek sistemik karena virus dan kemungkinan karena sistem imun. Gejala ini dapat berlanjut melalui konvalesens saat tubuh memperbaiki kerusakan. Individu biasanya mengembangkan respons imun memori untuk proteksi terhadap tantangan yang sama dengan virus tersebut (Goering *et al.*, 2019).

#### **7. Lapisan Terluar pada Virus Merupakan Bagian yang Pertama Kali Berkontak dengan Membran Sel Inang**

Struktur dan sifat dari lapisan terluar virus memiliki peran penting dalam proses infeksi, secara umum, virus yang tidak berselubung (*naked*) dapat bertahan dengan baik di lingkungan dan dapat memiliki resistensi terhadap asam atau garam empedu. Hal inilah yang dapat membantu proses infeksi melalui saluran gastrointestinal. Di lain sisi, virus dengan selubung lebih rentan terhadap beberapa faktor lingkungan seperti suasana kering, asam pada lambung, dan

garam empedu. Perbedaan suseptibilitas inilah yang mempengaruhi cara-cara bagaimana virus dapat ditransmisikan (Goering *et al.*, 2019).

## 8. Infeksi Pada Sel Inang

Tahapan-tahapan proses infeksi pada sel inang

### a. Partikel Masuk ke dalam Tubuh Manusia Melalui Berbagai Cara

Bentuk-bentuk yang paling umum dari transmisi virus adalah:

- 1) Melalui *droplet* yang terhirup (Contohnya: *rhinovirus*, *virus influenza*, *corona virus MERS*)
- 2) Dalam makanan atau minuman (Contohnya: *virus hepatitis A* *virus hepatitis E*, *norovirus*)
- 3) Dengan perpindahan langsung dari pejamu lain, seperti cairan tubuh yang terinfeksi melalui transmisi seksual atau rute yang dilalui darah (Contohnya HIV, virus hepatitis B, virus ebola)
- 4) Dari gigitan vektor arthropoda (contohnya virus *yellow fever*, virus *West nile*, virus *zika*)

### b. Virus memiliki spesifitas terhadap inang/hopes dan biasanya hanya menginfeksi satu atau beberapa spesies inang dalam lingkup yang terbatas. Dasar dari spesifitas ini adalah kemampuan partikel virus untuk berikatan dengan sel inang

Proses penempelan atau adsorpsi terhadap sel inang bergantung pada ikatan intermolekuler secara umum. Setelah itu, proses ini dilanjutkan oleh interaksi yang lebih spesifik antara molekul pada nukleokapsid virus tak berselubung atau membran pada virus berselubung, dengan molekul pada membran sel inang. Pada banyak kasus, dapat ditemukan interaksi spesifik virus dengan satu buah molekul tertentu pada inang yang bertindak sebagai reseptor. Virus influenza, contohnya, menempel pada sebuah glikoprotein (asam sialat) yang ditemukan pada beberapa sel membran mucus dan eritrosit melalui hemaglutinin yang dimilikinya. Contoh

lain pada proses penempelannya pada reseptor ini akan diikuti oleh proses masuknya virus ke dalam sel inang. (Goering *et al.*, 2019)

## 9. Pathogenesis Virus

### a. Sitopatogenesis

Tiga *outcome* potensial yang didapat pada infeksi virus:

- 1) Kegagalan inf (*abortive infection* = tidak ada efek)
- 2) Kematian sel (*lytic infection*)  
Viral mutants yang menyebabkan infeksi abortif tidak bermultiplikasi dan karena itu menghilang.

Infeksi persistent dapat

- 1) Kronik (non litik, produktif)
- 2) Latent (*viral macromolecular* terbatas, tetapi tidak ada sintesis virus)
- 3) Rekurens atau *Transforming* (*immortalizing*)

Sifat *nature* infeksi ditentukan oleh karakteristik virus dan sel target. *Nonpermissive cell* tidak mengizinkan replikasi virus tertentu atau strain virus. *Permissive cell* mengembangkan *biosynthetic machinery* (misalnya faktor transkripsi, *post-translational processing enzyme*) untuk menyokong siklus replikatif virus secara komplit. *Semi Permissive cell*: replikasi virus mungkin sangat efisien atau sel dapat menyokong beberapa tetapi tidak semua tahap replikasi virus.

Replikasi virus dapat dimulai dengan perub didalam sel yang menyebabkan sitolisis atau perubahan penampilan sel, fungsi atau antigenitasnya. Efek pada sel dapat terjadi dari *viral takeover* sintesis makromolekular, penumpukan protein atau partikel virus, atau modifikasi, atau gangguan struktur sel.

## 10. Infeksi Litik (*Lytic Infections*) (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012)

Infeksi litik terjadi jika replikasi membunuh sel target. Beberapa virus mencegah pertumbuhan dan perbaikan sel dengan menghambat sintesis sel makromolekul atau dengan

menghasilkan enzim degradatif dan protein toksik. Misalnya HSV dan virus lain menghasilkan protein yang menghambat sintesis DNA sel dan *messenger* RNA (mRNA) serta sintesis protein lain yang menurunkan DNA pejamu untuk menyediakan substrat untuk replikasi genom.

Replikasi virus dan penumpukan komponen virus dan keturunannya dalam sel dapat mengganggu struktur dan fungsi sel atau mengganggu lisosom menyebabkan autolisis. Ekspresi antigen virus pada permukaan sel dan gangguan sitoskeleton dapat mengubah interaksi sel dengan sel dan penampilan sel (sel sebagai target untuk sitolisis imun).

Ekspresi glikoprotein permukaan sel *paramyxovirus*, dan *retrovirus* memicu fusi sel sebelahnya ke dalam sel raksasa multinuklear (disebut sinsitia). Pembentukan sinsitia memudahkan virus menyebar dari sel-sel dan lepas dari deteksi antibodi. Sinsitia bisa mudah pecah dan rentan terhadap lisis, sinsitia yang terjadi pada infeksi HIV juga menyebabkan kematian sel (Soedarto, 2015).

Infeksi virus atau respons imun sitolitik dapat merangsang apoptosis di dalam sel yang terinfeksi. Apoptosis adalah preset kaskade kejadian, jika dipicu akan menyebabkan bunuh diri sel. Proses ini dapat memudahkan pembebasan virus dari sel, tetapi juga terbatas pada sejumlah virus yang dihasilkan karena hancurnya “pabrik” virus. Sebagai hasilnya, banyak virus (seperti *herpesvirus*, *hepatitis C virus*) mengkode metode untuk menghambat apoptosis. Sel juga dapat membatasi produksi virus oleh *phosphorylating eIF2a* (pemanjangan *initiation factor 2 alpha*) untuk mencegah kumpulan ribosom pada mRNA yang mematikan sintesis protein, proteksi ini dapat dipicu oleh jumlah besar sintesis protein yang diperlukan untuk produksi virus atau respons terhadap IFN- $\alpha$  atau IFN- $\beta$  dan *double-stranded* RNA *replicative intermediate*.

Beberapa infeksi virus menimbulkan perubahan karakteristik penampilan dan sifat sel target. Misalnya aberasi kromosom dan pengurangannya dapat terjadi dan

dapat dideteksi dengan pewarnaan histologi. Struktur yang dapat diwarnai disebut *inclusion bodies* yang dapat terjadi dalam nukleus atau sitoplasma. Struktur ini dapat terjadi karena perubahan virus di dalam membrane atau struktur kromosom atau dapat timbul pada tempat replikasi virus atau akumulasi *viral capsid*. Karena *nature* dan lokasi *inclusion bodies* khas untuk infeksi virus tertentu. Infeksi virus juga dapat menyebabkan vakuolisasi atau sekeliling sel dan perubahan histologic non spesifik lain, hal ini menunjukkan sel yang sakit (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012).

#### **11. Infeksi Nonlitik (*Nonlytic Infection*) (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012)**

Infeksi persisten terjadi dalam sel terinfeksi yang tidak dibunuh oleh virus. Beberapa virus menyebabkan infeksi produktif persisten karena virus dibebaskan secara halus (hati-hati) dari sel melalui eksositosisnorn melalui *budding* (virus beramplop) dari membran plasma.

#### **12. Oncogenic Viruses (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012)**

Beberapa DNA virus dan retrovirus menyebabkan infeksi persisten yang juga dapat merangsang pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, menyebabkan transformasi atau *immortalization* sel. Karakteristik sel yang berubah bentuk (*transformed cell*) termasuk berlanjutnya pertumbuhan sel tanpa penuaan, perubahan morfologi serta metabolisme sel, bertambahnya kecepatan pertumbuhan sel dan transport gula dan kemampuan tubuh suspensi.

*Oncogenic virus* yang berbeda juga mempunyai mekanisme berbeda untuk *immortalizing* sel. Virus immortalize (mengabadikan) sel dengan: 1. Aktivasi atau mengembangkan *growth-stimulating genes*, 2. Menghilangkan mekanisme menghambat yang membatasi sintesis DNA dan pertumbuhan sel, atau 3. Mencegah apoptosis. *Immortalization* oleh DNA virus terjadi dalam *semi permissive cell* yang hanya menyeleksi gen virus tetapi tidak menghasilkan virus. Sintesis DNA virus dan mRNA

terlambat, juga protein terlambat, atau virus menyebabkan kematian sel yang menghalangi *immortalization*. Beberapa *oncogenic DNA virus* berintegrasi ke dalam kromosom sel pejamu.

*Retrovirus* (RNA virus) memakai dua pendekatan untuk onkogenesis. Beberapa *oncovirus* mengkode *oncogenic protein* (misalnya *sis, ras, Src., mos, myc, jun, fos*) hampir identik dengan protein sel yang terlibat dalam mengontrol pertumbuhan sel (misalnya komponen *growth-factor signal cascade* atau *growth-regulating transcription factors*).

*Human T cell lymphotropic virus type 1* (HTLV-1) menjadi satu-satunya *human oncogenic retrovirus* yang dikenal memakai mekanisme leukemogenesis yang tidak kentara. Virus ini mengkode protein (*tax*) yang *transactives* ekspresi gen, termasuk gen untuk *growth-stimulating cytokines* (misalnya IL-2). *HTLV-1 associated leukemias* timbul perlahan yang terjadi 20-30 tahun sesudah infeksi. *Retrovirus* kontinu menghasilkan virus dalam *immortalized* atau *transformed cell*.

Beberapa virus dapat memulai pembentukan tumor secara tidak langsung. *Hepatitis B virus* (HBV) dan *hepatitis C virus* (HCV) dapat mempunyai mekanisme onkogenesis secara langsung. Stimulasi pertumbuhan dan perbaikan sel hepar dapat merangsang mutasi yang langsung. Stimulasi pertumbuhan dan perbaikan sel hepar dapat merangsang mutasi yang dapat membentuk tumor. *Human herpesvirus 8* (HHV8) merangsang timbulnya sarkoma kaposi dengan menggunakan *growth-promoting cytokine* yang dikode oleh virus, seringkali terjadi pada penderita imunokompromis seperti AIDS.

### **13. Pertahanan Pejamu terhadap Infeksi Virus (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012)**

Kulit merupakan barier terbaik terhadap infeksi, tetapi terbukanya kulit, apakah lubang natural (misalnya mulut, mata, hidung, telinga, dan anus) atau karena trauma seperti abrasi atau tertusuk menyebabkan patogen masuk ke dalam tubuh. Tempat terbuka natural mempunyai proteksi dasar,

selain kulit, merupakan bagian dari barrier natural (misalnya mucus, silia epitel, asam lambung, air mata, empedu). Sesudah virus menembus barrier natural kemudian mengaktifkan pertahanan imun antigen-nonspesifik (*innate*) (misalnya demam, interferon, makrofag, sel denrit, sel NK) yang membatasi serta mengontrol replikasi dan penyebaran virus. Beberapa glikoprotein, DNA, RNA virus, dan *double-stranded* RNA dapat mengaktifkan respon selular innate melalui interaksi dengan *Toll-like receptor* (TLR). Respons imun antigen-spesifik (misalnya antibodi, sel T *helper*) yang terakhir diaktivasi dan dapat dibagi dalam:

- a. Respons awal lokal (TH1)
- b. Respon sistemik-antibodi timbul kemudian (TH2), dan
- c. Memori imun

Interferon dan respons sel T sitolitik dapat mengembangkan respons primer dan respons pertahanan antiviral.

Tujuan akhir respons imun adalah untuk menghilangkan virus dari sel yang mengeluarkan atau melakukan replikasi virus (resolution). Respons imun yang terbaik dan pada kebanyakan kasus hanya mengontrol infeksi virus. Baik respons imun humoral ataupun respons selular penting untuk imunitas antiviral.

Infeksi virus putus jika semua virus infeksius dan sel terinfeksi virus dibersihkan dari tubuh. Respons *innate* dirangsang oleh komponen virus dan interferon yang sering cukup membatasi infeksi dan memulai resolusi. Antibodi efektif terhadap virus ekstraselular dan mungkin cukup untuk mengontrol *cytolytic virus*, karena *virion factory* dalam sel terinfeksi dihilangkan oleh replikasi virus. *Cell-mediated immunity* diperlukan untuk lisis sel target pada infeksi nonsitolitik (misalnya hepatitis A virus) dan infeksi virus beramplop.

Kebanyakan virus mempunyai mekanisme untuk mengelak atau menghambat respons imun agar virus dapat memperpanjang kehidupan dalam pejamu. Mekanisme ini

termasuk mencegah kerja interferon, mengubah antigen virus, penyebaran transmisi sel ke sel untuk lepas dari antibodi, serta menekan presentasi dan fungsi limfosit. Kegagalan memutuskan infeksi akan menyebabkan infeksi persisten, penyakit kronik, atau kematian penderita.

Sebelum terjadi imunitas yang disebabkan sel B memori dan sel T, mungkin tidak dapat mencegah stadium initial infeksi, tetapi pada kebanyakan kasus dapat mencegah progresivitas penyakit. Pada tantangan ulangan, antibodi serum dapat mencegah penyebaran virus dan respons sekunder terjadi jauh lebih cepat dan lebih efektif dibanding dengan respon primer.

Banyak virus, terutama virus ukuran lebih besar dapat mengelak satu atau lebih aspek kontrol imun. Dengan mencegah konsekuensi status antiviral yang dirangsang oleh IFN- $\alpha$  dan IFN- $\beta$ , maka sintesis protein *herpes simplex virus* dan replikasi dapat terus kontinyu, inhibisi MHC kelas I oleh *cytomegalovirus* dan *adenovirus* mencegah sel T membunuh sel terinfeksi. Variasi antigenic melebihi perjalanan beberapa tahun (pergeseran dan penyimpangan antigen) karena influenza atau selama hidup individu terinfeksi HIV akan membatasi efikasi antiviral dari antibodi.

#### 14. Imunopatologi (Goering *et al.*, 2019)

Reaksi hipersensitivitas dan inflamasi yang memulai antiviral dapat sebagai penyebab utama manifestasi dan gejala penyakit virus. Respons awal terhadap virus dan infeksi virus, seperti IFN dan sitokin, serta aktivitas komponen komplemen C3 oleh *alternative pathway* dapat memulai respons inflamasi lokal dan sistemik. Misalnya IFN dan sitokin menstimulasi *flulike symptoms* yang biasanya berhubungan dengan *respiratory viral infections and viremias* (misalnya demam, *runny nose*, malaise, dan sakit kepala). Gejala ini sering didahului (*prodome*) karakteristik gejala infeksi virus selama stadium viremik - kemudian kompleks imun n aktivitas komplemen (*classic pathway*), CD4 T-cell-induced *delayed-type hypersensitivity*, dan aksi CD8 *cytolytic T-*

*cell* dapat merangsang kerusakan jaringan. Aksi ini sering menimbulkan neutrophil dan lebih banyak menimbulkan kerusakan sel.

Respons inflamasi yang dimulai oleh *cell-mediated immunity* sukar untuk mengontrol dan merusak jaringan. Infeksi oleh virus beramplop terutama merangsang *cell-mediated immune responses* yang biasanya menimbulkan kondisi imunopatologik yang lebih luas. Misalnya gejala klasik *measles* dan *mumps* akibat inflamasi yang dirangsang sel T dan respons hipersensitivitas dibandingkan dengan efek sitopatologik virus. Terdapatnya jumlah antigen yang banyak selama viremia atau infeksi kronik (misalnya infeksi HBV) dapat memulai *classic type III immune complexes hypersensitivity reactions*. Kompleks imun ini sering menumpuk dalam ginjal dan menyebabkan persoalan ginjal.

Pada virus *dengue* dan *measles*, imunitas parsial terhadap virus yang berhubungan atau diinaktivasi dapat terjadi pada respons pejamu yang lebih berat dan penyakit pada tantangan berikutnya dengan virus yang berhubungan atau virulen. Hal ini disebabkan karena *antigen-specific T-cell* dan respons antibodi bertambah serta merangsang inflamasi dan kerusakan hipersensitivitas yang bermakna terhadap sel endotel terinfeksi (*dengue haemorrhagic fever*) atau kulit dan paru-paru (*atypical measles*).

Pada umumnya anak mempunyai respons *cell-mediated immune* yang kurang aktif (misalnya sel NK) dibandingkan dengan dewasa dan karena itu biasanya mempunyai gejala lebih ringan selama inf oleh bbrp virus (mis *measles*, *mumps*, *Epstein-barr*, dan *varicella-zoster virus*). Pada kasus hepatitis B virus ringan atau tidak ada gejala berkorelasi dengan ketidakmampuan untuk memutuskan infeksi akan terjadi penyakit kronik.

## 15. Penyakit Virus (Garna, Sjahrodji and Alam, 2012)

Suseptibilitas relatif dan beratnya penyakit bergantung pada faktor:

- a. Sifat *nature* paparan
- b. Status imun, usia, dan Kesehatan umum
- c. Dosis virus
- d. Genetik virus dan pejamu.

Selama periode inkubasi virus bereplikasi, tetapi tidak mencapai jaringan target atau merangsang kerusakan yang cukup untuk menyebabkan penyakit. Periode inkubasi relatif pendek jika tempat primer infeksi merupakan jaringan target dan menghasilkan karakteristik gejala penyakit. Virus yang harus menyebar ke tempat lain dan diperkuat sebelum sampai ke jaringan target mempunyai periode inkubasi yang lebih lama. *Non-spesifik* atau *flu-like symptom* dapat mendahului karakteristik gejala selama periode *prodome*.

*Nature* dan beratnya gejala penyakit virus berhubungan dengan fungsi jaringan target yang terinfeksi (misal hepar, hepatitis; otak, ensefalitis) dan luasnya respon imunopatologik yang dipicu oleh infeksi. Infeksi yang tidak jelas (*inapparent infection*) terjadi jika:

- a. Jaringan infeksi tidak dirusak.
- b. Infeksi dikontrol sebelum virus mencapai jaringan target.
- c. Jaringan target dapat dihabiskan.
- d. Jaringan yang rusak cepat diperbaiki (sembuh).
- e. Luasnya kerusakan dibawah ambang fungsional untuk jaringan tertentu.

Virus dapat menyebabkan infeksi sesudah mengalahkan *barier* protektif natural tubuh, menghindari kontrol imun, dan membunuh sel jaringan penting (misalnya otak) atau memicu respons imun destruktif dan respons inflamasi. *Outcome* infeksi virus ditentukan oleh interaksi virus-pejamu dan respons pejamu terhadap infeksi. Respons imun merupakan terapi terbaik. Tetapi sering dapat menerangkan mengenai patogenesis infeksi virus, jaringan yang ditargetkan oleh virus mempengaruhi *nature* penyakit

dan gejala-gejalanya. Faktor virus dan pejamu menentukan beratnya penyakit, termasuk *strain* virus, ukuran inokulum, dan Kesehatan umum orang yang terinfeksi. Kemampuan respons imun orang yang terinfeksi untuk mengontrol infeksi ditentukan oleh berat dan lamanya penyakit (Goering *et al.*, 2019)

Infeksi virus dapat menyebabkan penyakit akut atau kronik (infeksi persisten). Kemampuan dan kecepatan sistem imun seseorang untuk mengontrol dan memutuskan infeksi virus biasanya menentukan apakah terjadi akut atau kronik, serta juga beratnya gejala. (Soedarto, 2015)

## DAFTAR PUSTAKA

- Garna, H., Sjahrodji, A.M. and Alam, A. (2012) Buku Ajar Divisi Infeksi Dan Penyakit Tropis. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Goering, R. *et al.* (2019) MIMS Medical Microbiology Medis. 6th ed Singapore: Elsevier Pte. Ltd.
- Misnadiarly and Djajaningrat, H. (2014) Mikrobiologi Untuk Klinik Dan Laboratorium. Jakarta: Rineka Cipta.
- Soedarto (2015) Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: CV Sagung Seto.

# BAB 7 | PRINSIP-PRINSIP IMUNOLOGI

dr. Syandrez Prima Putra, M.Sc.

## A. Pendahuluan

Imunologi adalah ilmu yang mempelajari pertahanan tubuh terhadap infeksi. Imunologi mulai berkembang sejak Edward Jenner (1796) berhasil mengungkapkan bahwa inokulasi *cowpox* pada seseorang memberikan kekebalan terhadap *smallpox*, dan istilah "vaksinasi" diperkenalkan untuk merujuk pada prosedur tersebut. Kontribusi Jenner lalu menjadi landasan bagi Robert Koch yang membuktikan bahwa penyakit menular disebabkan oleh mikroorganisme spesifik, sementara Louis Pasteur berhasil menciptakan vaksin untuk kolera dan rabies (Kenneth and Casey, 2017).

Pada awal tahun 1890-an, Emil von Behring dan Shibasaburo Kitasato menemukan bahwa serum hewan yang kebal terhadap difteri atau tetanus mengandung 'aktivitas antitoksik' yang dapat memberikan perlindungan sementara terhadap efek toksin pada manusia. Aktivitas ini ternyata disebabkan oleh antibodi, protein yang saat ini dikenal sebagai bagian integral dari sistem kekebalan tubuh. Pentingnya antibodi dalam kekebalan diperkuat oleh penemuan Jules Bordet pada tahun 1899 tentang komplemen, suatu komponen dalam serum yang bekerja bersama dengan antibodi untuk menghancurkan bakteri patogen. Selanjutnya, Elie Metchnikof menemukan bahwa sel fagositik adalah sel utama yang berfungsi menelan dan mencerna banyak mikroorganisme. Saat

ini semakin jelas bahwa setiap substansi yang mampu memicu munculnya antibodi spesifik disebut dengan antigen. Paul Ehrlich lalu berhasil mengembangkan antiserum, yaitu bahan yang mengandung antibodi spesifik untuk pengobatan difteri. (Kenneth and Casey, 2017).

. Secara umum, tubuh melindungi diri dengan avoidan (mencegah infeksi), resisten (mengurangi dan mengeliminasi patogen), dan toleransi (meningkatkan ketahanan jaringan terhadap kerusakan) (Kenneth and Casey, 2017). Sistem imun melibatkan berbagai sel dan molekul efektor yang bersinergi untuk melindungi tubuh dari agen infeksi dan toksin. Meskipun awalnya dianggap sebagai pertahanan terhadap infeksi, sistem imun juga terlibat dalam menghilangkan zat asing lainnya, termasuk antigen atau sel tumor, serta antibodi yang menyerang diri sendiri (Zabriskie, 2009).

## **B. Komponen Sistem Imun**

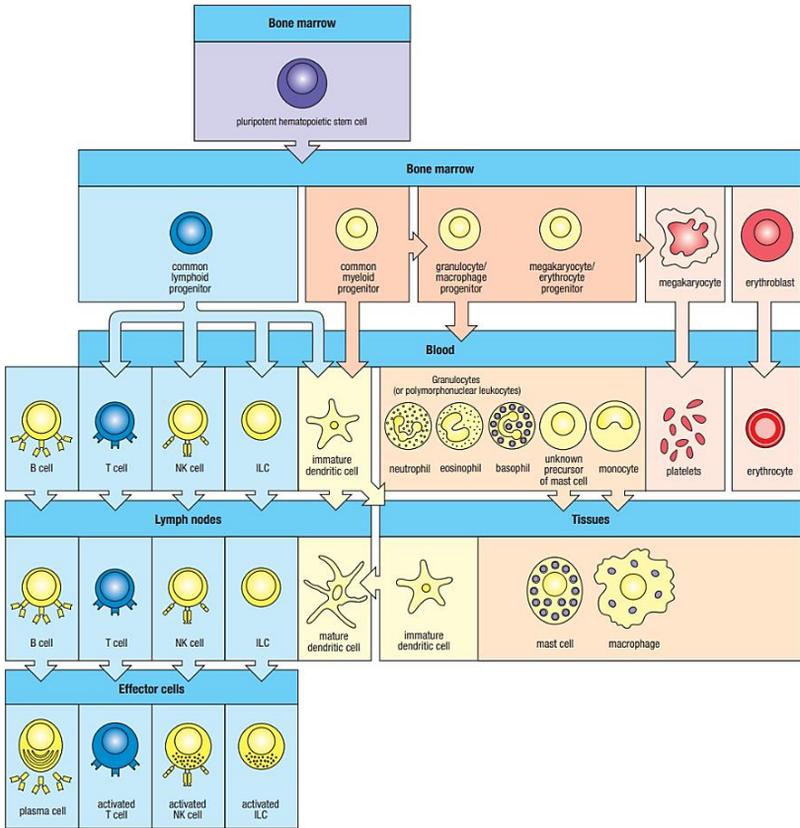
### **1. Komponen Barrier**

Komponen barrier berperan sebagai pertahanan awal melawan penetrasi mikroorganisme atau benda asing non-spesifik. Salah satu komponen utama adalah lapisan sel epitel yang berfungsi sebagai penghalang primer. Lapisan ini tersebar di permukaan kulit, saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan saluran genitourinari. Memiliki *tight junctions* yang rapat, lapisan sel epitel juga memproduksi antimikroba seperti lysozyme, peptida yang melarutkan dinding sel bakteri, dan defensin, peptida antimikroba yang membuat lubang pada dinding sel bakteri, mengganggu membran bakteri. Selain itu, mukus atau lendir yang terdiri dari mukin, protein, protease, dan inhibitor protease, menjadi komponen utama pada epitel mukosa. Fungsinya termasuk mencegah adhesi bakteri dan membersihkan bakteri melalui gerakan silia. Lingkungan kimia juga berperan, seperti asam lambung dan enzim proteolitik di usus halus yang menciptakan lingkungan tidak menguntungkan bagi banyak bakteri. Sekresi keringat dan kelenjar sebacea, yang memiliki

sifat antimikroba, serta asam lemak pada kulit juga turut membantu menghilangkan organisme patogen (Riedel *et al.*, 2019; Cowan and Smith, 2018).

## 2. Komponen Seluler

Sistem imun bergantung pada kerja sama leukosit yang berasal dari *hematopoietic stem cells* (HSCs) atau sel pluripoten. Mayoritas leukosit diproduksi di sumsum tulang, sementara beberapa makrofag, seperti mikroglia dalam sistem saraf pusat, berasal dari *yolk sack* atau hati janin selama perkembangan embrio. Setelah matang, leukosit beredar ke jaringan perifer, sirkulasi darah, dan sistem limfatik. Sel pluripoten dalam sumsum tulang mengalami diferensiasi menjadi progenitor sel limfoid dan myeloid. Progenitor sel limfoid berkembang menjadi sel B, sel T, sel NK (*Natural Killer*), dan sel IL (*Innate Lymphoid*), sedangkan progenitor sel myeloid berdiferensiasi menjadi sel-sel granulosit, megakariosit, dan eritroblas sebelum memasuki pembuluh darah. Leukosit yang berasal dari progenitor sel limfoid disebut sebagai leukosit tipe limfoid, sementara yang berasal dari progenitor sel myeloid disebut sebagai tipe myeloid (Kenneth and Casey, 2017).



Gambar 7. 1. Perkembangan Sel Pluripoten menjadi Sel-Sel Darah Jalur Limfoid (Biru) dan Myeloid (Merah)

### a. Leukosit Tipe Limfoid

Leukosit tipe limfoid terdiri dari sel B, sel T, NK dan sel IL. Sel T dan Sel B merupakan limfosit (Gambar 7.2a), sel yang memiliki reseptor antigen yang unik dan tidak dimiliki oleh leukosit lainnya. Sementara itu, sel NK dan ILC tidak memiliki reseptor antigen yang spesifik. Limfosit yang belum diaktivasi oleh antigen dikenal sebagai limfosit naif; sementara limfosit yang telah bertemu dengan antigen, menjadi aktif, dan telah berdiferensiasi lebih lanjut menjadi fungsional dikenal sebagai limfosit efektor. Limfosit beredar dalam darah dan limfe serta berada dalam organ limfoid.

Organ limfoid terdiri dari organ limfoid pusat (primer) dan organ limfoid perifer (sekunder). Organ limfoid pusat mencakup sumsum tulang dan timus, di mana limfosit dihasilkan. Sel B mengalami diferensiasi di sumsum tulang, sedangkan sel T mengalami proses ini di timus. Organ limfoid perifer mencakup kelenjar getah bening, limpa, dan jaringan limfoid mukosal di berbagai bagian tubuh. Limfosit naif matang dipertahankan di organ limfoid perifer, dan respon imun adaptif dimulai di sana (Kenneth and Casey, 2017).

### 1) Limfosit B (Sel B)

Sel B berasal dari *common lymphoid progenitor* (CLP) dan berkembang di sumsum tulang. Sel ini ditemukan pertama kali pada *bursa Fabricius*, suatu organ limfoid yang ditemukan pada anak ayam, sehingga diberi nama 'sel B', namun kini dapat pula direpresentasikan kepada *bone marrow*, atau sumsum tulang. Sel B memiliki reseptor sel B (BCR), terbentuk oleh gen-gen yang sama yang mengkode antibodi, kelompok protein yang juga dikenal sebagai imunoglobulin (Ig). Oleh karena itu, reseptor antigen limfosit B juga dikenal sebagai imunoglobulin membran (mIg) atau imunoglobulin permukaan (sIg). Setelah antigen berikatan dengan BCR, sel B akan berkembang biak dan berdiferensiasi menjadi sel plasma. Ini adalah bentuk efektor dari limfosit B, dan mereka mensekresikan antibodi yang memiliki spesifitas antigen yang sama dengan reseptor sel B sel plasma. Oleh karena itu, antigen yang mengaktifkan sel B tertentu menjadi target antibodi yang diproduksi oleh keturunan sel B tersebut (Kenneth and Casey, 2017).

Dalam situasi tertentu, sel B juga dapat berperan sebagai *antigen presenting cell* (APC) (akan dijelaskan lebih lanjut). Antigen bebas juga dapat merangsang BCR, tetapi sebagian besar sel B memerlukan 'bantuan'

dari sel T *helper* yang diaktifkan untuk respons antibodi yang optimal. Sejumlah besar sel B dan sel T yang diaktivasi secara spesifik terhadap antigen tetap ada setelah antigen dieliminasi. Sel-sel ini disebut sel memori dan menjadi dasar dari ingatan imunologis (akan dijelaskan lebih lanjut) (Kenneth and Casey, 2017).

## 2) Limfosit T (Sel T)

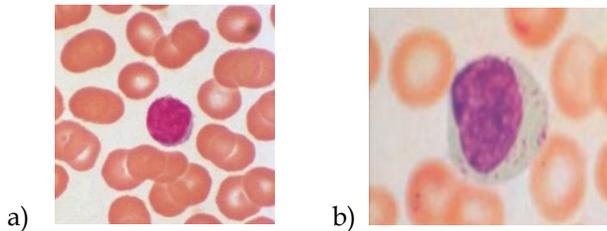
Seperti sel B, sel T berasal dari CLP, namun sel ini menyelesaikan perkembangannya di timus. Berbeda dengan sel B, Sel T memiliki reseptor khas yang disebut reseptor sel T (TCR). TCR mengenali epitop peptida, bagian dari antigen yang berasal dari protein yang terurai sebagian, tetapi hanya jika peptida tersebut terikat pada glikoprotein permukaan sel yang disebut molekul MHC. Anggota keluarga besar glikoprotein permukaan sel ini dihasilkan oleh kumpulan gen yang disebut *major histocompatibility complex* (MHC). Antigen yang dikenali oleh sel T dapat berasal dari protein yang berasal dari patogen intraseluler, seperti virus, atau dari patogen ekstraseluler. Perbedaan TCR dari molekul antibodi adalah bahwa tidak ada bentuk tersekresi dari TCR; dan berfungsi semata-mata untuk memberi sinyal kepada sel T bahwa ia telah terikat pada antigen, dan efek imunologis selanjutnya bergantung pada tindakan sel T itu sendiri.

Ketika sel T pertama kali bertemu antigen, mereka berkembang menjadi sel efektor dengan tiga fungsi utama: sel T sitotoksik membunuh sel terinfeksi, sel T *helper* mengaktifkan sel lain, dan sel T regulatif menekan aktivitas limfosit. Seperti sel B, beberapa sel T membentuk sel memori, yang bertanggung jawab atas kekebalan jangka panjang setelah paparan penyakit atau vaksinasi. Sel memori dapat dengan cepat menjadi sel efektor pada paparan antigen

berikutnya. Fungsi sel T dibahas lebih rinci pada imunitas adaptif (Kenneth and Casey, 2017).

### 3) Sel NK

Sel NK (*Natural Killer*) merupakan sel mirip limfosit yang besar dengan sitoplasma granuler khas (Gambar 2b). Sel ini dapat diidentifikasi melalui kemampuannya untuk mengenali dan membunuh sel tumor serta sel yang terinfeksi herpes virus. Berbeda dengan limfosit, sel NK tidak memiliki reseptor spesifik antigen, tetapi mereka mengekspresikan anggota dari berbagai keluarga reseptor bawaan yang merespons stres seluler dan infeksi oleh virus tertentu. Sel NK memiliki peran penting dalam respons alamiah awal terhadap infeksi virus, sebelum respons kekebalan adaptif berkembang (Kenneth and Casey, 2017).



Gambar 7. 2. Leukosit Tipe Limfoid: (a) Limfosit, (b) Sel NK

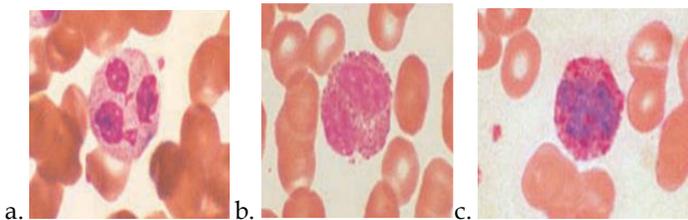
### 4) Sel IL

Baru-baru ini, beberapa garis keturunan sel terkait dengan sel NK telah diidentifikasi. Secara kolektif, sel-sel ini disebut sel limfoid bawaan (*innate lymphoid*, IL). Berasal dari CLP, sel IL berada di jaringan perifer, seperti usus, dimana mereka berfungsi sebagai sumber mediator respons peradangan (Kenneth and Casey, 2017).

## b. Leukosit Tipe Myeloid

### 1) Granulosit

Granulosit adalah leukosit yang granula berwarna padat di dalam sitoplasmanya karena bentuk intinya yang beragam sehingga juga disebut sel polimorfonuklear (PMN) (Gambar 7.3). Masa hidupnya relatif singkat, hanya bertahan beberapa hari. Sel ini berkembang menjadi sel dewasa di sumsum tulang, dan produksinya meningkat selama respons imun, selanjutnya bermigrasi ke lokasi infeksi atau peradangan. Neutrofil adalah granulosit paling banyak dan penting dalam respon imunitas alamiah. Fungsi utamanya yaitu fagositosis, yakni menyerap berbagai mikroorganisme, terutama bakteri, dan menghancurkannya efisien menggunakan enzim degradatif dan zat antimikroba yang tersimpan dalam granulanya. Eosinofil dan basofil kurang umum dibanding neutrofil, tetapi keduanya memiliki granula yang mengandung berbagai enzim dan protein beracun yang efektif untuk pertahanan terhadap parasit. Kedua sel ini diketahui terlibat dalam reaksi alergi yang justru cenderung merusak (Kenneth and Casey, 2017).



Gambar 7. 3. Granulosit: (a) Neutrofil, (b) Eosinofil, (c) Basofil

### 2) Makrofag

Makrofag adalah sel imun penting yang tersebar di berbagai jaringan (Gambar 7.4a). Makrofag terbentuk selama perkembangan embrio dan dapat pula berasal dari monosit pada dewasa. Fungsi

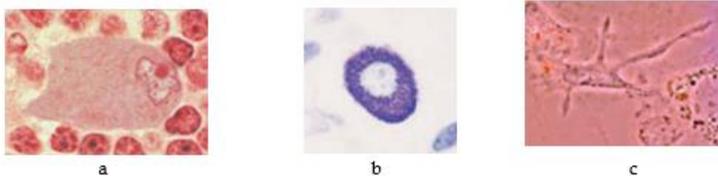
utamanya adalah fagositosis, menelan dan menghancurkan mikroorganisme penyebab infeksi. Makrofag juga berperan dalam mengatur respons imun dengan memicu inflamasi, kritis untuk respons kekebalan. Sel ini memproduksi mediator inflamasi, merangsang sel imun lainnya, dan membantu menarik mereka ke area terkena. Aktivasi sistem komplemen oleh bakteri merangsang fagositosis oleh makrofag, membantu menghancurkan mikroba. Selain itu, makrofag berfungsi sebagai "pemakan sampah" dengan membersihkan tubuh dari sel mati dan debris sel, menjadikannya sel yang memiliki masa hidup panjang untuk menjalankan peran fungsionalnya secara berkelanjutan (Kenneth and Casey, 2017).

### 3) Sel Mast

Sel mast memulai perkembangannya di sumsum tulang, namun bermigrasi sebagai sel prekursor yang kemudian matang di jaringan perifer, terutama kulit, usus, dan mukosa saluran udara. Granul pada sel mast mengandung banyak mediator inflamasi, seperti histamin dan berbagai protease, yang berperan dalam melindungi permukaan internal dari patogen, termasuk cacing parasit (Gambar 7.4b) (Kenneth and Casey, 2017).

### 4) Sel Dendritik

Sel dendritik, jenis leukosit lainnya, berasal dari sel progenitor myeloid atau limfoid, serta hasil diferensiasi dari monosit (Gambar 7.4c). Sel ini berpindah ke jaringan dan matang saat berinteraksi dengan patogen. Meskipun mengurai patogen, peran utama sel dendritik adalah sebagai sensor yang memicu produksi mediator untuk mengaktifkan sel imun lainnya. Sebagai sel *antigen-presenting* (APC), sel dendritik memainkan peran penting dalam mengaktifkan limfosit T dalam sistem kekebalan adaptif (Kenneth and Casey, 2017).



Gambar 7. 4. (a) Makrofag, (b) Sel Mast, (c) Sel Dendritik

### 3. Komponen Humoral

Komponen humoral merupakan komponen imun non-seluler yang berada di dalam humor/cairan tubuh, baik intravaskuler (serum) maupun ekstraseluler (interstisial). Komponen humoral terdiri dari komplemen dan antibodi.

#### a. Komplemen

Komplemen adalah sekitar 30 protein dalam darah dan cairan tubuh lainnya yang berperan dalam melawan infeksi. Diproduksi terutama di hati, komplemen aktif saat terjadi infeksi. Fungsi utamanya adalah membantu fagosit menangkap dan menghancurkan bakteri. Reseptor komplemen pada fagosit berikatan dengan protein komplemen di permukaan bakteri, memudahkan penangkapan bakteri. Beberapa protein komplemen juga meningkatkan kemampuan fagosit untuk membunuh bakteri dan merusak membran selnya. Berbagai jenis komplemen fungsional dapat dilihat pada tabel 7.1 (Kenneth and Casey, 2017).

Tabel 7.1. Komplemen dan Fungsinya.

Komplemen	Fungsi
C1q	Berikatan dengan antigen-antibodi kompleks dan permukaan patogen
MBL, Ficolins, Properdin (faktor P)	Berikatan dengan struktur karbohidrat seperti mannose atau GlcNAc pada permukaan bakteri

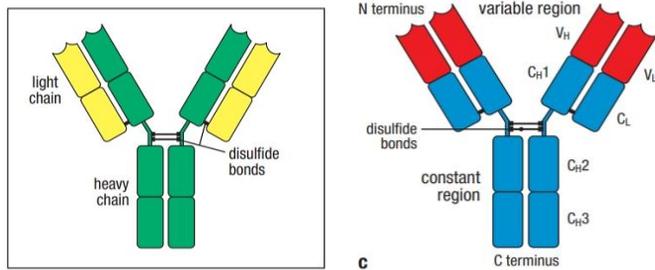
Komplemen	Fungsi
C1r, C1s, C2a, Bb, D, MASP-1, MASP-2, MASP-3	Mengaktivasi enzim
C4b, C3b	Berikatan pada permukaan dan opsonin
C5a, C3a, C4a	Mediator inflamasi
C5b, C6, C7, C8, C9	Protein penyerang membran
CR1, CR2, CR3, CR4, CRIg	Reseptor komplemen
C1INH, C4BP, CR1/CD35, MCP/CD46, DAF/CD55, H,I,I,P,CD59	Protein regulator komplemen

## b. Antibodi

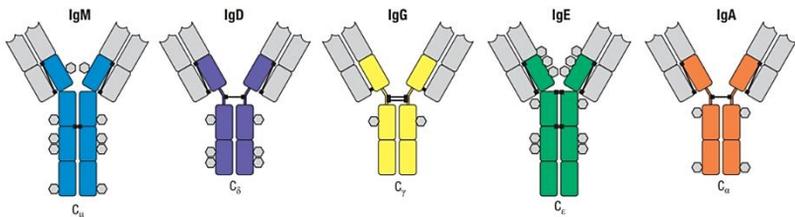
Antibodi adalah molekul efektor pengikat antigen yang disekresikan oleh sel B yang telah aktif (sel plasma), yang merupakan bentuk tersekresi dari reseptor sel B. Antibodi larut dalam plasma. Struktur molekul antibodi membentuk huruf "Y", terdiri dari dua rantai berat (*heavy chain*) identik dan dua rantai ringan (*light chain*) identik (Gambar 6). Pada ujung kedua lengan "Y", rantai ringan berikatan dengan rantai berat membentuk regio variabel (*variable region*, regio V) yang berfungsi mengenali dan mengikat antigen (*fragment antigen-binding site*, Fab), sehingga struktur asam aminonya bervariasi. Fab ini merupakan N-terminus dari molekul antibodi. Sebaliknya, pangkal lengan "Y" yang bertaut dengan batang huruf "Y", atau regio konstan (*constant region*, regio C; atau *fragment crystallizable region*, Fc) merupakan bagian yang berinteraksi dengan molekul dan sel efektor, sehingga strukturnya tetap. Fc ini merupakan C-terminus dari molekul antibodi.

Antibodi dibedakan oleh struktur dan properti regio C, antara lain imunoglobulin M (IgM), imunoglobulin D (IgD), imunoglobulin G (IgG),

imunoglobulin A (IgA), dan imunoglobulin E (IgE), dan regio C nya ditandai berturut-turut dengan huruf Yunani, yaitu  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\alpha$ , dan  $\epsilon$ . Contoh, IgM memiliki regio  $C_{\mu}$  (Gambar 7.5).

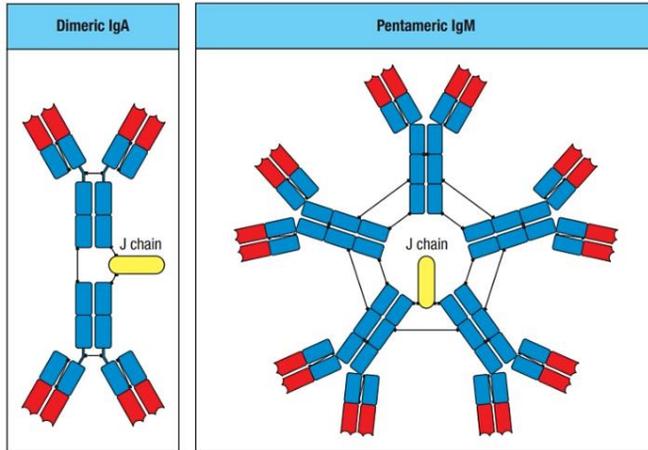


Gambar 7. 5. Struktur antibodi berbentuk “Y”: rantai ringan (kuning), rantai berat (hijau), regio V (merah), regio C (biru). Perhatikan bahwa setiap regio memiliki bagian dari rantai ringan (V<sub>L</sub>, C<sub>L</sub>) dan rantai berat (CH1, CH2, CH3).



Gambar 7. 6. Jenis-Jenis Imunoglobulin ditentukan oleh Struktur Fc dari Antibodi

Meskipun semua molekul imunoglobulin dibentuk dari dua rantai berat dan dua rantai ringan, IgM dan IgA bisa membentuk lebih dari satu unit dasar. Pada IgM dan IgA, terdapat bagian yang disebut 'ekor' yang berfungsi penting dalam penggumpalan. Selain itu, ada juga suatu rantai kecil yang disebut *J chain* yang membantu proses penggumpalan ini, terutama pada bagian yang hanya terdapat dalam bentuk imunoglobulin yang dikeluarkan oleh sel (Gambar 7.7) (Kenneth and Casey, 2017).



Gambar 7. 7. Struktur Khas pada IgA (Dimer) dan IgM (Pentamer)

### C. Imunitas Alamiiah

Imunitas alamiiah adalah respon bawaan tubuh terhadap infeksi patogen secara umum. Patogen, seperti virus, bakteri, fungi, dan parasit, dapat menyebabkan penyakit. Sebagian besar patogen dapat dideteksi dan dihancurkan dalam hitungan menit atau jam oleh imunitas alamiiah, yang menggunakan komponen humoral dan seluler yang memiliki reseptor pengenal alamiiah atau bawaan. Reseptor ini sudah ada sejak lahir; diwariskan langsung dari gen yang diperoleh dari orang tua.

#### 1. Pertahanan Awal Oleh Komponen Barier

Barier anatomi dan kimiawi adalah pertahanan awal terhadap penetrasi patogen. Apabila patogen berhasil melewati barier baik anatomi maupun kimiawi, maka akan terjadi infeksi.

#### 2. Respon Imun Humoral Alamiiah

Ketika terjadi infeksi, akan terjadi respon imun humoral alamiiah oleh sistem komplemen. Protein komplemen (Tabel 1) akan menargetkan patogen baik untuk dihancurkan atau difagosit oleh sel imun dalam respon imun seluler. Aktivasi sistem komplemen ada tiga jalur:

- a. Jalur lektin diinisiasi oleh protein pengikat karbohidrat larut - *mannose-binding lectin* (MBL) dan fikolins - yang

berikatan dengan struktur karbohidrat tertentu pada permukaan mikroba. Enzim protease spesifik, yang disebut protease serin terkait MBL (MASP), yang berhubungan dengan protein pengenalan ini kemudian memicu pemecahan protein komplemen dan aktivasi jalur tersebut.

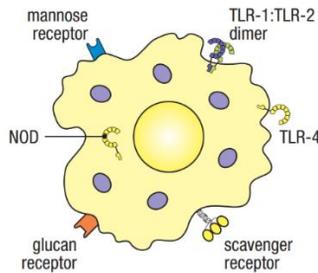
- b. Jalur klasik diinisiasi ketika komponen komplemen C1, yang terdiri dari protein pengenalan (C1q) yang berhubungan dengan protease (C1r dan C1s), mengenali langsung permukaan mikroba atau berikatan dengan antibodi yang sudah terikat pada patogen.
- c. Terakhir, jalur alternatif diinisiasi oleh hidrolisis spontan dan aktivasi komponen komplemen C3, yang kemudian dapat berikatan langsung dengan permukaan mikroba.

Proses aktivasi sistem komplemen dimulai dengan interaksi jalur komplemen dengan permukaan patogen, memicu aktivitas enzimatis C3 convertase. C3 convertase memecah C3 menjadi C3b (efektor utama) dan C3a (peptida peradangan), menghasilkan respons opsonisasi dan fagositosis. C3b juga dapat membentuk C5 convertase, yang memecah C5 menjadi C5a (peptida peradangan) dan C5b. C5b memulai serangkaian peristiwa 'akhir' dengan membentuk *membrane attack complex* (MAC) yang menciptakan pori-pori dalam membran sel mikroba, menyebabkan lisis sel dan menghancurkan patogen. Aktivasi sistem komplemen melalui tahap-tahap ini memberikan respons pertahanan tubuh yang efektif terhadap invasi mikroba.

### 3. Respon Imun Seluler Alamiah

Jika sistem komplemen gagal, patogen akan berhadapan dengan respon imun seluler alamiah. Respon ini dimulai ketika sel-sel sensor mendeteksi patogen melalui reseptor pengenal alamiah. Komponen patogen maupun molekul asing seperti lipopolisakarida bakteri atau ATP yang dikenali oleh reseptor ini disebut pencetus inflamasi. Makrofag, neutrofil, dan sel dendritik, sebagai sel-sel sensor,

mengenali molekul-molekul ini melalui *pattern recognition receptors* (PRRs) seperti *Toll-like receptor* (TLR) dan *NOD-like receptor* (NLR). PRRs dapat membedakan *self* dan *nonself* dengan mengenali *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs), seperti oligosakarida, peptidoglikan, dan lipopolisakarida, yang ada pada patogen. Aktivasi PRRs akan menginduksi produksi mediator inflamasi, memicu respon imun. Ini melibatkan penghancuran mikroba patogen atau respons koordinatif dengan sel lain.



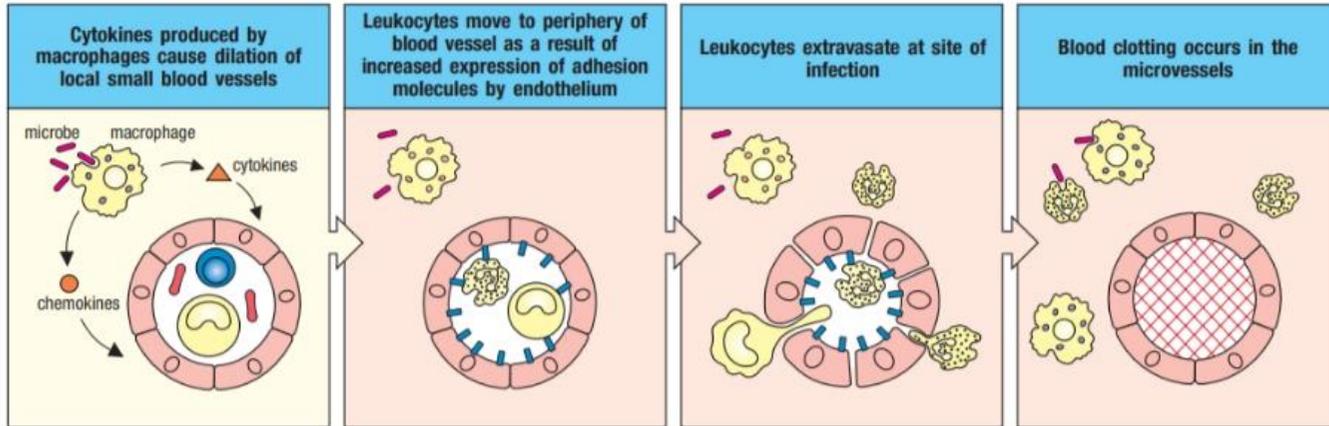
Gambar 7. 8. Reseptor pada Makrofag

Sel-sel sensor memicu respons inflamasi dengan menghasilkan mediator-mediator inflamasi, terutama sitokin dan kemokin. Sitokin, yang diproduksi oleh sel-sel imun, mempengaruhi sel-sel terdekat yang memiliki reseptor yang sesuai. Ada sekitar 60 jenis sitokin yang diproduksi oleh berbagai sel, dan kemampuannya mempengaruhi berbagai jenis sel tergantung pada reseptor yang ada. Sitokin, protein kecil sekitar 25 kDa, dilepaskan oleh berbagai sel dalam tubuh sebagai respons terhadap stimulus aktivasi dan menginduksi respons melalui pengikatan pada reseptor tertentu. Sitokin dapat berfungsi secara autokrin, mempengaruhi perilaku sel yang melepaskan sitokin, atau secara parakrin, memengaruhi sel-sel yang berdekatan. Beberapa sitokin bahkan cukup stabil untuk berfungsi secara endokrin, memengaruhi sel-sel yang berjauhan. Banyak sitokin dinamai interleukin (IL) diikuti oleh angka, meskipun tidak semua termasuk dalam sistem ini. Kemokin, jenis protein lain yang dihasilkan oleh sel-sel imun, berfungsi sebagai kemoatraktan untuk menarik sel-sel lain ke arah sel

yang mengeluarkannya, seperti makrofag. Dengan sekitar 50 jenis kemokin, mereka membantu mengatur sel-sel di jaringan limfoid untuk berkumpul di lokasi tertentu, memfasilitasi fungsi khusus mereka.

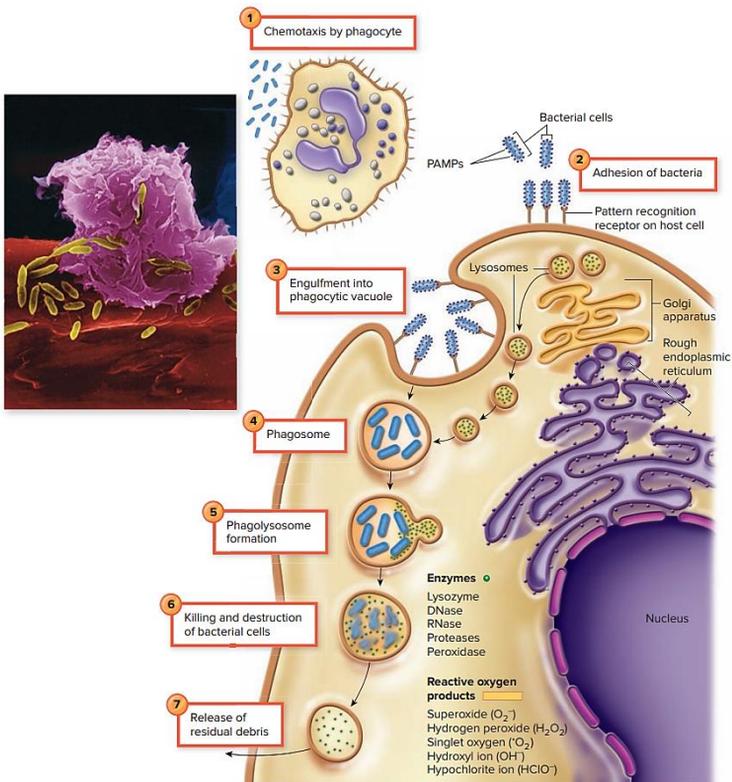
Secara umum, sitokin dan kemokin memicu proses peradangan atau inflamasi. Inflamasi bertujuan utama untuk membasmi patogen dengan meningkatkan aliran limfe dan membawa bakteri ke jaringan limfoid untuk mengaktifkan sistem imun adaptif. Secara klinis, inflamasi dapat dijelaskan dengan kata-kata bahasa Latin, yaitu *calor* (panas), *dolor* (nyeri), *rubor* (merah), dan *tumor* (bengkak), yang dipicu oleh mediator inflamasi pada pembuluh darah lokal. Lebar dan lebih permeabelnya pembuluh darah menyebabkan panas, merah, dan bengkak karena cairan dan protein dari darah bocor ke jaringan. Sitokin dan kemokin yang diproduksi oleh sel endotel pembuluh darah juga dapat merenggangkan ikatan antara sel endotel, memperparah inflamasi. Migrasi sel-sel leukosit ke jaringan dan aktivitas lokal mereka menyebabkan rasa nyeri (Gambar 10).

Makrofag dan neutrofil, yang disebut juga sebagai sel-sel radang, memainkan peran penting dalam memulai respons inflamasi dengan menghasilkan sebagian besar sitokin dan kemokin. Sitokin dan kemokin utama yang dihasilkan oleh makrofag dan sel dendritik sebagai respons terhadap produk bakteri melibatkan IL-1 $\beta$ , IL-6, CXCL8, IL-12, dan TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  memiliki peran sebagai penginduksi respons inflamasi lokal untuk membatasi infeksi, tetapi juga memiliki efek sistemik yang sebagian besar bersifat merugikan. Kemokin CXCL8 membantu menarik neutrofil ke situs infeksi dalam respons inflamasi lokal. IL-1 $\beta$ , IL-6, dan TNF- $\alpha$  memiliki peran kunci dalam menginduksi respons fase akut di hati dan menyebabkan demam, mendukung pertahanan tubuh dengan berbagai cara. IL-12 berperan dalam mengaktifkan sel NK dan mendukung diferensiasi sel T CD4 menjadi subset T<sub>H</sub>1 dalam imunitas adaptif (akan dibahas kemudian).



Gambar 7. 9. Proses Inflamasi

Reaksi ikutan pasca inflamasi yaitu terjadinya proses fagositosis, yang bertujuan untuk memusnahkan patogen. Proses fagositosis dimulai ketika reseptor pada permukaan sel, terutama pada makrofag, neutrofil, atau sel dendritik, berinteraksi dengan permukaan mikroba (Gambar 7.11). Mikroba yang terikat pertama-tama dikelilingi oleh membran plasma fagosit dan kemudian diinternalisasi dalam vesikel endositosis besar yang disebut fagosom. Fagosom ini kemudian berfusi dengan satu atau lebih lisosom untuk membentuk fagolisosom, tempat konten lisosom, termasuk enzim lisosomal hidrolase dan peptida antimikroba, dilepaskan. Selanjutnya, fagolisosom mengalami asidifikasi, memperoleh sifat asam, dan akuisisi peptida serta enzim antimikroba. Selama proses ini, terjadi proses enzimatik yang menghasilkan superoksida radikal dan nitrat oksida yang sangat reaktif, yang bersama-sama berkontribusi pada pembunuhan mikroba.



Gambar 7. 10. Fagositosis

Neutrofil, meskipun sangat berspesialisasi dan melepaskan granula sitoplasma yang meningkatkan kemampuan intraseluler mereka dalam membunuh mikroba, memiliki masa hidup yang singkat. Meskipun akhirnya hadir dalam jumlah yang lebih besar dalam beberapa infeksi akut, neutrofil mati setelah satu putaran fagositosis dan menggunakan granula mereka. Neutrofil yang mati atau sekarat menjadi komponen utama nanah (**pus**) dalam abses dan luka yang terinfeksi oleh bakteri piogenik tertentu seperti *Streptococcus* dan *Staphylococcus*. Sebaliknya, makrofag memiliki masa hidup yang panjang dan terus menghasilkan lisosom baru.

Selain itu, terdapat jalur lain di mana materi ekstraseluler, termasuk materi mikrobial, dapat diambil ke dalam kompartemen endosom sel dan diuraikan, yaitu melalui endositosis yang dimediasi reseptor. Jalur ini tidak terbatas pada fagosit dan melibatkan sel dendritik dan fagosit lainnya. Selain itu, proses nonspesifik yang disebut makropinositosis memungkinkan sel dendritik dan fagosit untuk mengambil patogen dengan menelan jumlah besar cairan ekstraseluler dan isinya.

Sel NK juga berperan dalam imunitas alamiah sebagai respon seluler. Sel NK disebut *Natural Killer* karena mereka dapat langsung membunuh sel-sel yang terinfeksi dan sel-sel tumor tersebut secara alamiah, sehingga penting sebagai pertahanan awal sebelum sel-sel dalam ranah adaptif berhasil terbentuk. Selain itu Sel IL juga berperan dalam imunitas alamiah menghasilkan mediator inflamasi (Kenneth and Casey, 2017; Cowan and Smith, 2018).

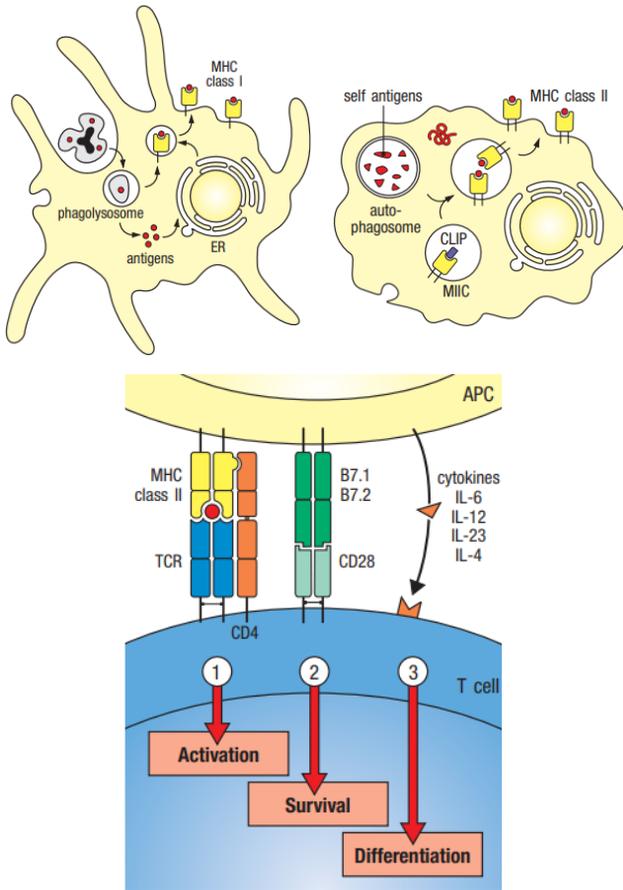
## D. Imunitas Adaptif

Imunitas adaptif menjadi pertahanan akhir jika patogen berhasil melewati imunitas alamiah. Imunitas adaptif bersifat **spesifik** terhadap antigen namun memerlukan waktu untuk berkembang. Imunitas adaptif memiliki **memori imunologis**, yakni apabila tubuh telah terinfeksi oleh suatu patogen, maka di kemudian hari tubuh akan merespon kuat jika terinfeksi lagi.

### 1. Respon Imun Seluler Adaptif

Aktivasi sel T naif merupakan langkah awal dalam semua respons imun adaptif. Setelah terjadinya fagositosis saat imunitas alamiah, sel dendritik akan bermigrasi ke organ limfoid sekunder dan masuk melalui pembuluh limfe aferen. Pada nodus limfe, sel T terdistribusi secara difus di sekitar area parakortikal atau Zona Sel T. Di area ini, sel dendritik akan terperangkap dan berinteraksi dengan sel T (Gambar 11).

Saat berinteraksi dengan sel T, sel dendritik akan bertindak sebagai *antigen presenting cells* (APC). APC akan menampilkan peptida antigen yang dibawa pada molekul MHC di permukaan selnya dan menyajikan antigen tersebut pada reseptor sel T (TCR). Presentasi antigen ini berfungsi untuk merangsang perkembangan sel T naif menjadi sel T efektor, dan memicu fungsi sel efektor tersebut di lokasi infeksi. Molekul MHC kelas I mengikat peptida yang dikenali oleh sel T CD8 (Sel T sitotoksik, Tc), sementara molekul MHC kelas II mengikat peptida yang dikenali oleh sel T CD4 (sel T *helper*, Th). Aktivasi sel T naif menjadi sel Tc atau sel Th berlangsung dengan bantuan molekul kostimulator yang diaktifkan oleh sel APC.

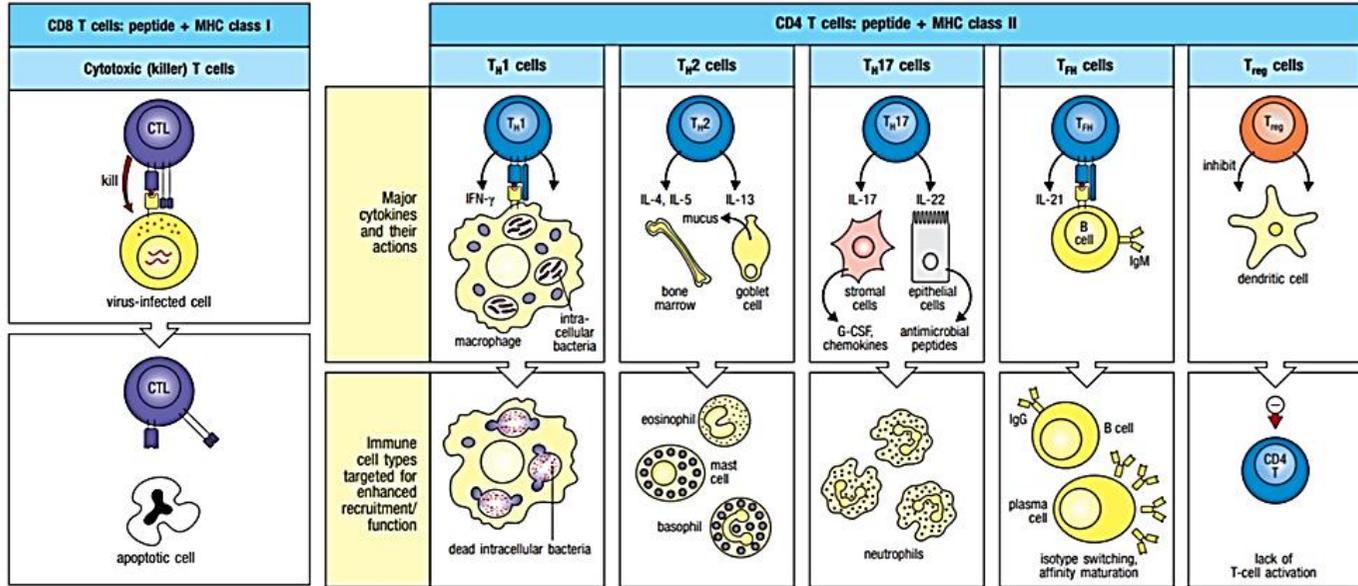


Gambar 7. 11. Pengenalan Antigen Oleh Sel T

Limfosit yang teraktivasi oleh antigen berproliferasi di organ limfoid sekunder, menjadi sel efektor dan sel memori. Limfosit naif, setelah mengenali antigen, berhenti bermigrasi, mengalami perubahan morfologi dan sintesis mRNA serta protein baru, menjadi limfoblast. Limfoblast dapat berproliferasi 2-4 kali selama beberapa hari, menghasilkan banyak sel anak identik. Proses ini disebut ekspansi klonal. Sel-sel anak ini kemudian berdiferensiasi menjadi sel-sel efektor. Sel CD8 naif aktif menjadi sel T sitotoksik ( $T_C$ ), dan sel CD4 naif aktif menjadi sel T *helper* ( $T_H$ ), yang terdiri dari beberapa subset utama, yaitu  $T_H$  1,  $T_H$  2,  $T_H$  17, sel T *follicular*

*helper* ( $T_{FH}$ ), dan sel T regulasi (Treg). Sel-sel efektor lalu beredar menuju lokasi infeksi untuk bekerja. Sel  $T_C$  berefek membunuh semua sel yang mengekspresikan antigen pada molekul MHC kelas I (hampir semua sel somatik, kecuali eritrosit) (Gambar 7.12), sementara  $T_H$  berefek pada semua sel yang mengekspresikan antigen pada MHC kelas II (sel dendritik, makrofag, dan sel B). Sel-sel ini tidak lagi membutuhkan molekul kostimulator untuk dapat bekerja pada sel targetnya, seperti saat mereka diaktifkan dari sel naif.

Berbeda dengan sel  $T_C$  yang langsung menyerang sel terinfeksi, sel  $T_H$  meningkatkan fungsi sel lain yang memberantas patogen.  $T_{H1}$  memproduksi  $IFN-\gamma$ , mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroorganisme intraseluler secara lebih efisien.  $T_{H2}$  merekrut eosinofil dan mengaktifkan sel mast dan basofil, memperkuat kekebalan di mukosa untuk memerangi cacing.  $T_{H17}$  menghasilkan IL-17, yang merangsang sel lokal untuk merekrut neutrofil, dan juga memproduksi IL-22 untuk mengaktifkan sel epitel, sehingga menghasilkan peptida antimikroba yang membunuh bakteri. Sel  $T_{FH}$  berinteraksi dengan sel B naif, mempromosikan respons germinal di folikel B (akan dibahas lebih lanjut). Sel T regulasi menekan aktivitas sel T dan sel imun alamiah, membantu mencegah perkembangan autoimunitas selama respons kekebalan (Gambar 7.12) (Kenneth and Casey, 2017).



Gambar 7. 12. Aktivitas Sel T Efektor

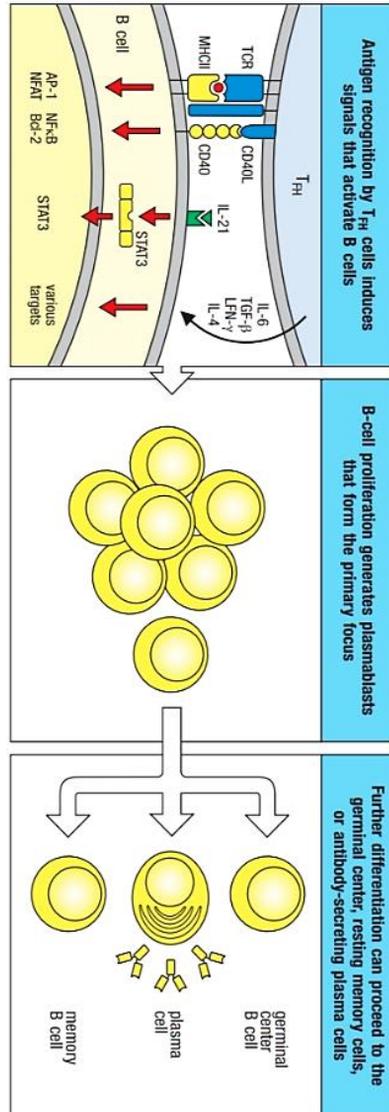
## 2. Respon Imun Humoral Adaptif

Respon imun humoral adaptif, yang melibatkan produksi antibodi oleh sel B, bertujuan untuk memerangi patogen di ruang ekstraseluler dan mencegah penyebaran infeksi intraseluler. Aktivasi sel B naif oleh antigen diperlukan untuk menghasilkan antibodi spesifik, biasanya memerlukan bantuan sel TH, terutama sel TFH. Proses ini disebut antigen thymus-dependent (TD). Meskipun respons sel B terhadap antigen protein membutuhkan bantuan sel T, beberapa komponen mikroba dapat memicu produksi antibodi tanpa bantuan sel T, dikenal sebagai antigen thymus-independent (TI), dapat merangsang respons antibodi pada individu tanpa sel T.

Untuk menerima bantuan sel T, sel B harus menampilkan antigen di permukaannya dalam bentuk yang dapat dikenali oleh sel T. Ini terjadi ketika antigen yang terikat oleh imunoglobulin permukaan pada sel B diinternalisasi dan terdegradasi di dalam sel B, kemudian peptida yang berasal dari antigen tersebut kembali ke permukaan sel dalam kompleks dengan molekul MHC kelas II. Ketika sel T<sub>FH</sub> mengenali kompleks peptida-MHC ini, sel B menerima sinyal yang mendukung kelangsungan hidup dan merangsang proliferasi. Sinyal ini termasuk aktivasi CD40 pada sel B oleh ekspresi CD40L pada sel T<sub>FH</sub>, dan produksi berbagai sitokin oleh sel T<sub>FH</sub>, termasuk IL-21. Sinyal CD40 mengaktifkan jalur NF- $\kappa$ B non-kanonikal dan meningkatkan kelangsungan hidup sel B dengan menginduksi ekspresi molekul anti-apoptosis seperti Bcl-2. Sinyal IL-21 mengaktifkan STAT3 dan meningkatkan proliferasi seluler serta diferensiasi menjadi sel plasma dan sel memori B.

Setelah pertemuan awal, sel B yang menerima bantuan dari sel T<sub>FH</sub> bermigrasi dari perbatasan folikel ke fokus primer. Sel B berkembang biak di fokus primer selama beberapa hari, merupakan fase pertama respons kekebalan humoral primer. Beberapa sel B yang berkembang di fokus primer berdiferensiasi menjadi plasmablas penghasil

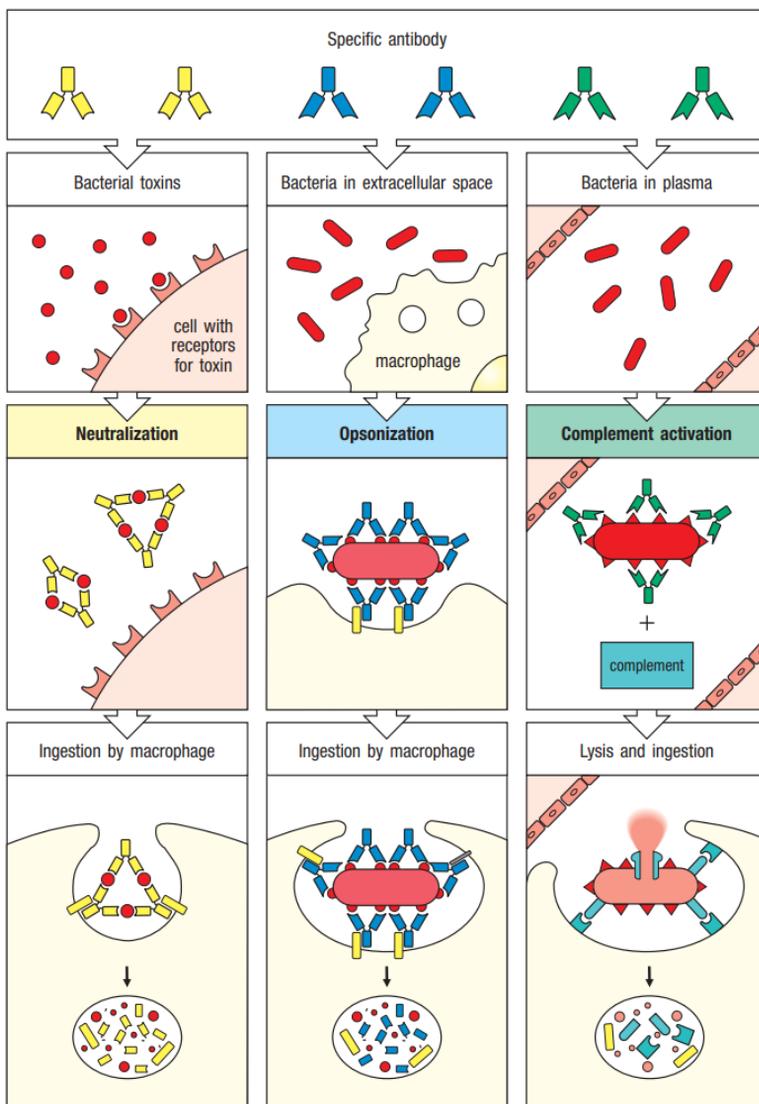
antibodi. Fase kedua respons kekebalan humoral primer terjadi ketika sel B yang diaktifkan bermigrasi ke folikel dan membentuk pusat germinal. Sel B di pusat germinal berkembang biak dengan cepat, berdiferensiasi menjadi sel plasma atau sel B memori setiap 6–8 jam. Sel plasma kemudian mensekresikan antibodi yang spesifik untuk antigen dan siap mempertahankan tubuh dari infeksi.



Gambar 7. 13. Aktivasi Sel B oleh sel T<sub>H</sub>1

Antibodi berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh melalui tiga mekanisme utama (Gambar 7.14). Pertama, dalam proses **netralisasi**, antibodi mampu mengikat patogen dan menghambat kemampuannya untuk memasuki sel atau menyebabkan infeksi. Kedua, melalui **opsonisasi**, antibodi memfasilitasi penyerapan patogen oleh fagosit dengan berikatan pada reseptor Fc melalui daerah konstan mereka. Mekanisme ketiga melibatkan **aktivasi sistem komplemen**, di mana antibodi yang terikat pada patogen memicu respons imun yang lebih luas dengan mengaktifkan protein pada jalur klasik komplemen. Dengan demikian, antibodi berperan krusial dalam memberikan perlindungan dan meningkatkan kemampuan tubuh untuk melawan serangan patogen.

IgM adalah antibodi pertama yang dihasilkan oleh sel B yang diaktifkan, namun hanya menyumbang kurang dari 10% dari total imunoglobulin dalam plasma. IgD diproduksi dalam jumlah kecil, sementara IgE memberikan kontribusi kecil tetapi penting pada respons kekebalan. IgG dan IgA adalah kelas antibodi dominan, dengan IgG menjadi kelas utama dalam darah dan cairan ekstraseluler, sedangkan IgA mendominasi dalam sekresi, terutama di epitel saluran pencernaan dan pernapasan. IgG efektif dalam memopsonisasi patogen untuk difagositosis dan mengaktifkan sistem komplemen. Sementara itu, IgA sebagai opsonin yang lebih lemah dan pengaktif sistem komplemen yang kurang kuat, beroperasi terutama di permukaan epitel di mana komplemen dan fagosit biasanya tidak hadir. Antibodi IgE hadir dalam jumlah sangat rendah dalam darah atau cairan ekstraseluler, tetapi memiliki afinitas tinggi pada reseptor sel mast di bawah kulit dan mukosa serta sepanjang pembuluh darah di jaringan ikat (Kenneth and Casey, 2017).



Gambar 7. 14. Mekanisme Imunitas Antibodi

## DAFTAR PUSTAKA

- Cowan, M. K. and Smith, H. R. (2018) *Microbiology : a systems approach*. Fifth edit. New York: McGraw-Hill Education.
- Kenneth, M. and Casey, W. (2017) *Janeway's immunobiology*. 9th edition. New York: Garland Science/Taylor & Francis Group, LLC.
- Zabriskie, J. B. (2009) *Essential Clinical Immunology*. Edited by J. B. Zabriskie. New York: Cambridge University Press.

# BAB 8 | FLORA NORMAL PADA TUBUH MANUSIA

Dr. Dwi Krihariyani, S.Pd., S.Si., M.Kes.

## A. Pendahuluan

Flora normal yang juga disebut sebagai "mikrobiota asli," merupakan ragam populasi mikroba yang secara alami menghuni berbagai bagian tubuh manusia, termasuk kulit dan selaput lendir. Distribusi flora normal mencakup saluran cerna, saluran pernafasan, saluran genitourinari, dan kulit. Walaupun flora normal mengandung banyak spesies mikroba yang beragam, umumnya mikroorganisme ini dapat dikelompokkan ke dalam salah satu dari dua kategori utama, yaitu flora residen yang menetap secara konstan dalam suatu lingkungan tubuh, dan flora sementara yang muncul dan tinggal untuk jangka waktu tertentu sebelum kembali berkurang (Sastry and Bhat, 2019).

### 1. Residen Flora (*Resident Flora*)

Organisme ini merupakan bagian integral dari komunitas mikroba normal dalam tubuh seumur hidup (Murray, 2018).

- a. Mikroba normal memiliki hubungan erat dengan lingkungan tertentu dan menunjukkan sifat adaptasi yang unik. Sebagai contoh, *Escherichia coli*, merupakan bagian dari flora usus, memiliki kemampuan untuk meregenerasi dan membangun kembali diri mereka ketika lingkungan usus terganggu. Kehebatan mikroba ini dalam

beradaptasi memungkinkannya untuk terus memainkan peran pentingnya dalam keseimbangan ekosistem usus.

- b. Mikroba ini tidak menimbulkan bahaya bagi inangnya, tetapi sebaliknya, mereka memberikan efek yang menguntungkan bagi inangnya.

## 2. Flora Sementara (*Transient Flora*)

Flora sementara terdiri dari mikroorganisme yang bersifat sementara dan mendiami permukaan tubuh atau selaput lendir untuk jangka waktu singkat (Berkowitz and Jerris, 2016).

- a. Flora sementara seringkali dapat menjadi patogen yang berpotensi menyebabkan penyakit, seperti pneumokokus dan meningokokus yang dapat ditemukan di nasofaring dalam kondisi tertentu.
- b. Di lingkungan rumah sakit, pasien memiliki potensi untuk kontak dan terkontaminasi dengan berbagai organisme resisten yang berperan sebagai flora sementara, terutama melalui interaksi dengan petugas kesehatan dan perawatan pada lingkungan rumah sakit. Contohnya, keberadaan MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) pada hidung dan kulit, serta organisme gram-negatif yang tahan terhadap sejumlah obat, seperti *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, dan *Acinetobacter*, dapat ditemui di saluran pernafasan pasien.
- c. Tidak seperti flora residen yang secara alami ada di dalam tubuh, mikroba yang merupakan flora sementara di permukaan tubuh relatif mudah dihilangkan dengan menerapkan praktik kebersihan tangan yang benar serta tindakan pengendalian infeksi lainnya. Proses mencuci tangan dengan sabun dan air, penggunaan antiseptik tangan, dan kepatuhan pada protokol kebersihan yang ketat di lingkungan kesehatan dapat efektif mengurangi beban bakteri patogen pada permukaan tubuh.

## B. Mikrobiologi Flora Normal

Residen flora yang menetap cenderung konstan untuk suatu area tubuh pada usia tertentu (Goering *et al.*, 2018).

1. Setelah kelahiran, manusia mendapatkan flora normal yang segera menetap dan terus hadir hingga akhir hayatnya
2. Meskipun kehidupan dapat berlangsung tanpa adanya flora normal, seperti pada hewan percobaan yang bebas bakteri, flora normal tetap memegang peranan penting dalam menjaga kesehatan dan fungsi normal inangnya.
3. Kehadiran flora normal di suatu tempat pada tubuh bergantung pada berbagai faktor lokal:
  - a. Suhu lokal, kelembaban, pH (asam atau basa)
  - b. Adanya nutrisi dan zat penghambat tertentu
  - c. Flora lingkungan (rumah sakit atau komunitas)
  - d. Status kekebalan individu
  - e. Situs anatomi: Kulit atau mukosa (gastrointestinal, pernafasan atau urogenital).
4. Sebagian besar flora normal didominasi oleh bakteri dan sedikit jamur. Keberadaan virus dan parasit sebagai flora normal masih diragukan.
5. Populasi flora normal pada manusia mencapai sekitar  $10^{14}$  bakteri, jumlah ini melebihi total sel tubuh manusia yang mencapai  $10^{13}$ , menunjukkan signifikansi peran mikroorganisme dalam keseimbangan ekosistem tubuh manusia.
6. Secara keseluruhan, flora anaerobik mendominasi flora aerob; rasio bakteri anaerobik/aerob bervariasi tergantung pada lokasi tubuh.
7. Di dalam saluran pencernaan, terdapat keberagaman kehidupan mikroba, dengan lebih dari 400 spesies bakteri yang telah diidentifikasi hingga saat ini.
8. *Bacteroides fragilis* dan *Escherichia coli* adalah bakteri yang umum dalam flora usus manusia. *Bacteroides fragilis* mendominasi dalam kategori bakteri anaerob, sementara *Escherichia coli* menonjol di antara bakteri aerob yang melengkapi ekosistem mikroba dalam saluran pencernaan.

9. Mikroba dalam spesimen yang diperoleh dari berbagai area tubuh manusia dan dianggap sebagai flora normal tercantum pada tabel 8.1.

Tabel 8.1. Bakteri Flora Normal

Area Tubuh Manusia	Mikroba
Kulit ( <i>Skin</i> )	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (dalam jumlah kecil), <i>Micrococcus species</i> , <i>a-Hemolytic</i> dan <i>non-hemolytic streptococci</i> ( <i>Streptococcus mitis</i> ), <i>Corynebacterium species</i> , <i>Propionibacterium species</i> , <i>Peptostreptococcus species</i> , <i>Acinetobacter species</i> , sejumlah kecil organisme lain ( <i>Candida species</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> )
Nasofaring ( <i>Nasopharynx</i> )	Diphtheroids, spesies <i>Neisseria nonpatogenik</i> , <i>a-hemolytic streptococci</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>non-hemolytic streptococci</i> , anaerobes, dan beberapa spesies termasuk <i>Prevotella species</i> , <i>anaerobic cocci</i> , <i>Fusobacterium species</i>  Mikroba yang ditemukan dalam jumlah sedikit: <i>yeasts</i> , <i>Haemophilus species</i> , <i>pneumococci</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Gram-negative rods</i> , <i>Neisseria meningitides</i>
Saluran cerna ( <i>Gastrointestinal tract</i> ) dan rectum ( <i>rectum</i> )	Berbagai <i>Enterobacteriaceae</i> KECUALI <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Vibrio</i> , dan <i>Campylobacter species</i> , Batang Gram-negatif yang tidak memfermentasi glukosa, <i>Enterococci</i> , <i>a-hemolytic</i> dan <i>non-hemolytic streptococci</i> , Diphtheroids, <i>S. aureus</i> dalam jumlah sedikit, <i>Yeasts</i> dalam jumlah sedikit, Anaerobes dalam jumlah besar (masih banyak spesies yang belum disebutkan)
Alat kelamin ( <i>Genitalia</i> )	Hanya terdapat beberapa saja dalam jumlah sedikit: <i>Corynebacterium species</i> , <i>Lactobacillus species</i> , <i>a-hemolytic</i> dan <i>non-hemolytic streptococci</i> , <i>non-pathogenic Neisseria species</i>

Area Tubuh Manusia	Mikroba
	Terdapat beberapa saja bila tercampur dan tidak dominan: <i>enterococci</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> dan batang Gram-negatif lainnya, <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Candida albicans</i> , dan ragi lainnya
	Anaerob (terlalu banyak untuk dicantumkan); berikut ini mungkin penting ketika dalam pertumbuhan murni atau jelas dominan: spesies <i>Prevotella</i> , <i>Clostridium</i> , dan <i>Peptostreptococcus</i>

(Sumber: (Riedel, Stefan; Morse, Stephen; Mietzner, Timothy; Miller, 2019)

### C. Peran Flora Normal

Keberagaman mikroba flora normal memiliki hubungan yang berbeda dengan inangnya, bisa bersifat simbiotik (saling menguntungkan), komensalisme (salah satu pihak diuntungkan tanpa merugikan yang lain), atau bahkan patogenik (merugikan satu pihak, biasanya inangnya) (Tortora, Funke and Case, 2019).

#### 1. Efek Menguntungkan

Flora normal memiliki beberapa efek menguntungkan bagi inangnya yang dibuktikan secara eksperimental dengan membandingkan antara hewan konvensional yang memiliki flora normal dengan hewan bebas bakteri (hewan yang tidak memiliki flora normal) dan hewan gnotobiotik (hewan yang memiliki beberapa mikroorganisme tertentu yang diketahui) (Talaro and Chess, 2018). Efek menguntungkan dari flora normal adalah sebagai berikut:

- a. Mencegah kolonisasi patogen: Flora normal mencegah kolonisasi patogen dengan bersaing untuk mendapatkan tempat menempel atau mendapatkan nutrisi penting.
- b. Sintesis vitamin: Bakteri enterik manusia mengeluarkan beberapa vitamin seperti Vitamin K dan B kompleks (misalnya Vitamin B12) secara berlebihan; yang dapat diserap oleh inang sebagai nutrisi.

- c. Limbah yang dihasilkan merupakan racun bagi bakteri lain: Flora normal dapat menghambat atau membunuh organisme flora sementara lainnya dengan menghasilkan berbagai zat limbah seperti:
- 1) Asam lemak dan peroksida;
  - 2) Asam laktat: Lactobacilli hadir sebagai flora normal di vagina wanita dewasa menjaga pH asam dengan memproduksi asam laktat, sehingga mencegah pertumbuhan bakteri pathogen;
  - 3) Bakteriosin: Beberapa flora normal dapat menghasilkan bakteriosin atau colicins yang merupakan zat mirip antibiotik yang dapat menghambat atau membunuh bakteri lain.
- d. Stimulasi kekebalan tubuh: Flora normal yang asing bagi inang merangsang sistem kekebalan tubuh inang, melalui proses:
- 1) Perkembangan jaringan limfatik: Stimulasi kekebalan membantu perkembangan jaringan limfatik di lokasi lokal (misalnya Peyer's patches di usus);
  - 2) Merangsang produksi antibodi: Antigen dari flora normal merangsang sistem kekebalan tubuh untuk menghasilkan antibodi yang bereaksi silang dengan patogen lain yang memiliki antigen terkait atau berbeda. Ini berarti, antibodi ini tidak hanya efektif melawan organisme mikroba dalam flora normal, tetapi juga dapat memiliki aktivitas melawan patogen lain yang memiliki kesamaan antigen dan secara efektif, antibodi yang dihasilkan melalui rangsangan oleh flora normal dapat memberikan perlindungan tambahan dengan mencegah masuknya antibodi yang mungkin dihasilkan dalam respons terhadap patogen eksternal yang serupa.
- e. Mencegah penyakit alergi (Hipotesis kebersihan): Ketidackukupan paparan anak pada mikroorganisme simbiosis, seperti flora usus atau probiotik, pada usia dini dapat meningkatkan kerentanan individu terhadap

penyakit alergi. Hal ini disebabkan oleh potensi supresi terhadap perkembangan alami sistem kekebalan tubuh, yang pada gilirannya dapat mengakibatkan peningkatan rentan terhadap agen infeksi dan parasite.

- f. Aktivasi komplemen: Endotoksin yang dilepaskan oleh populasi flora normal gram negatif dapat membantu mekanisme pertahanan tubuh dengan memicu jalur komplemen alternatif.

## 2. Flora Normal yang Terganggu Mendorong Terjadinya Infeksi

Apabila komposisi flora normal terganggu maka akan memudahkan organisme patogen masuk dan menimbulkan penyakit (Kenneth J. Ryan, Nafees Ahmad, J. Andrew Alspaugh, 2018). Beberapa mekanisme terganggunya flora normal adalah sebagai berikut:

- a. Penggunaan agen antimikroba spektrum luas secara tidak bijaksana: Hal ini dapat menekan flora normal sehingga memungkinkan patogen (eksogen dan endogen) mengambil alih dan menyebabkan infeksi. Misalnya *Clostridioides difficile* yang menyebabkan kolitis pseudomembran.
- b. Faktor *host* (inang): seperti penekanan kekebalan tubuh, berkurangnya peristaltik dapat mendorong pertumbuhan pathogen.
- c. Kerusakan fisik flora normal dapat subuh mengalami melalui proses iradiasi, eksposur terhadap bahan kimia, luka bakar, dan faktor-faktor lainnya yang dapat mengganggu integritas serta keseimbangan mikroorganisme yang biasanya ada dalam lingkungan tubuh.
- d. Dengan jumlah inokulum patogen yang tinggi, kemungkinan besar patogen tersebut akan mampu mendominasi flora normal dalam lingkungan tersebut.
- e. Trauma ringan di mulut (misalnya saat melakukan prosedur perawatan gigi, mengunyah, atau menyikat gigi dengan kuat) dapat mendorong masuknya sejumlah kecil

bakteri (misalnya viridians streptococci) masuk mengikuti aliran darah, yang dapat menyebabkan endokarditis bakterialis.

### 3. Efek Berbahaya

Flora normal dapat menimbulkan dampak berbahaya, dua dampak pertama sangat signifikan (Mahon and Lehman, 2019).

- a. Sebagai agen penyakit: Anggota flora normal dapat menyebabkan berbagai penyakit endogen (Tabel 8.2).
  - 1) Ketika kekebalan tubuh menurun, flora sementara dapat menyerang dan menimbulkan penyakit, misalnya organisme gram negatif (*E. coli*) yang berada di saluran pernapasan dapat menyebabkan pneumonia.
  - 2) Jika bakteri tersebut memasuki tempat atau jaringan yang salah (misalnya darah, rongga tubuh yang steril) maka flora yang ada di dalamnya pun dapat menimbulkan penyakit. Misalnya, *E. coli* yang merupakan flora penghuni usus dapat menyebabkan infeksi saluran kemih jika masuk ke saluran kemih.
- b. Transfer ke inang yang rentan: Beberapa patogen manusia yang merupakan anggota flora normal pada satu inang dapat menimbulkan penyakit jika berpindah ke inang lainnya. Misalnya, patogen yang menghuni saluran pernapasan bagian atas (seperti meningokokus, pneumokokus) dapat menimbulkan penyakit pada inang yang rentan.
- c. Sinergisme bakteri: Vitamin bakteri dan faktor pertumbuhan yang diproduksi oleh anggota flora normal dapat mendorong pertumbuhan patogen potensial (flora sementara).
- d. Berkontribusi terhadap resistensi obat patogen: Beberapa anggota flora normal menghasilkan enzim seperti beta laktamase yang menghancurkan antibiotik beta laktam; sehingga secara tidak langsung berkontribusi terhadap

resistensi obat dari patogen yang rentan terhadap obat tersebut.

- e. Persaingan untuk mendapatkan nutrisi inang: Bakteri di saluran pencernaan menyerap sebagian nutrisi inang untuk kelangsungan hidupnya.

Tabel 8.2. Penyakit yang Disebabkan oleh Flora Normal

Penyakit yang disebabkan oleh flora normal	Situs anatomi tempat flora dipindahkan
Infeksi urogenital termasuk ISK	Flora usus seperti <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i>
Endokarditis	Oral flora ( <i>Viridans streptococci</i> )
Karies gigi dan penyakit periodontal	Oral flora ( <i>Streptococcus mutans</i> )
Peritonitis, infeksi perut	Intestinal flora
Radang paru-paru ( <i>pneumonia</i> )	Flora pernafasan ( <i>Transient respiratory flora</i> )
Keracunan darah ( <i>septicemia</i> )	Dari situs mana pun

Sumber: (Sastry and Bhat, 2019)

#### 4. Probiotik

Istilah "Probiotik" didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup (bagian dari flora normal) yang bila diberikan dalam jumlah cukup dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya (Tille, 2017).

- a. Probiotik sangat berguna dalam kondisi flora normal usus tertekan.
- b. Probiotik yang tersedia secara komersial umumnya dijual dalam bentuk kapsul atau sachet, mengandung campuran berbagai bakteri probiotik penting dan rasi flora usus manusia, seperti *Bacillus coagulans*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii*, dan lainnya.

Probiotik diketahui memiliki peran bermanfaat dalam kondisi/penyakit berikut:

- a. Untuk mengobati berbagai bentuk kondisi saluran pencernaan seperti: Gastroenteritis karena sebab apa pun,

diare terkait antibiotik, intoleransi laktosa, sindrom iritasi usus besar dan colitis, enterokolitis nekrotikans, infeksi *Helicobacter pylori*.

- b. Menurunkan kadar kolesterol serum dengan memecah empedu di usus, sehingga menghambat reabsorpsinya.
- c. Mengurangi tekanan darah (dengan memproduksi peptida seperti *Angiotensin-converting enzyme* (ACE) inhibitor selama fermentasi).
- d. Pemulihan fungsi kekebalan tubuh dan mencegah infeksi.
- e. Memodulasi respon inflamasi dan hipersensitivitas, sehingga dapat diberikan pada penderita kelainan alergi, eksim dan dermatitis atopik.
- f. Vaginosis bakterial (pemulihan pH asam vagina oleh bakteri penghasil asam laktat).

Organisme hidup yang terkandung dalam probiotik harus tetap hidup agar dapat bekerja di usus besar, dan harus mampu bersaing dengan flora usus yang sudah ada untuk dapat berkembang dengan baik. Setelah berhasil mengatasi tantangan tersebut, probiotik dapat memberikan efek manfaatnya seperti yang diinginkan. Oleh karena itu, saat ini, selain probiotik, sediaan terkait lainnya yang disebut prebiotik semakin banyak digunakan.

## 5. Prebiotik

Prebiotik, berbeda dengan probiotik, adalah serat makanan yang tidak dapat dicerna, dan ketika dikonsumsi, mereka merangsang pertumbuhan mikroorganisme baik di saluran pencernaan. Tindakan ini memberikan efek menguntungkan bagi inangnya secara tidak langsung, karena membantu menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan dan aktivitas bakteri sehat di usus. Dengan memberikan nutrisi yang diperlukan bagi bakteri baik, prebiotik berperan penting dalam memelihara keseimbangan flora usus dan mendukung kesehatan sistem pencernaan secara keseluruhan (Cowan and Smith, 2018).

## DAFTAR PUSTAKA

- Berkowitz, F. E. and Jerris, R. C. (2016) Practical Medical Microbiology for Clinicians.
- Cowan, M. K. and Smith, H. (2018) Microbiology: A Systems Approach, Fifth Edition.
- Goering, R. V. *et al.* (2018) MIMS' Microbiology Medical and Immunology.
- Kenneth J. Ryan, Nafees Ahmad, J. Andrew Alspaugh, W. L. D. (2018) Sherris Medical Microbiology-McGraw-Hill Education (2018).
- Mahon, C. R. and Lehman, D. C. (2019) Text Book of Diagnostic Microbiology, Elsevier Saunders. Available at: <http://evolve.elsevier.com/Mahon/microbiology/YOU'VE JUSTPURCHASED>.
- Murray, P. R. (2018) Basic Medical Microbiology.
- Riedel, Stefan; Morse, Stephen; Mietzner, Timothy; Miller, S. (2019) Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology. 28th Edition. Available at: <https://drive.google.com/file/d/1Ix1V42dkScshd1XDkh5ii9F6uhMY1gec/view>.
- Sastry, A. S. and Bhat, S. (2019) Essential of Medical Microbiology, Second Edition. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.
- Talaro, K. P. and Chess, B. (2018). Foundations in Microbiology, Tenth Edition.
- Tille, P. M. (2017) Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Fourteenth. St. Louis, Missouri 63043: Elsevier, Inc.
- Tortora, G. J., Funke, B. R. and Case, C. L. (2019) Microbiology an Introduction Thirteenth Edition.

# BAB 9 | PRINSIP PENGUJIAN KUALITAS AIR

Aini, A.Md., Kes., S.Si., M.Si.

## A. Pendahuluan

Pengujian kualitas air merupakan suatu upaya menjaga kesehatan masyarakat dan sistem perairan agar tidak tercemar oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri virus protozoa. Bakteri virus protozoa merupakan kontaminan yang sering ada di dalam air. Pengujian kualitas air bertujuan untuk memastikan tidak adanya cemaran oleh kontaminan tersebut. Metode uji mikrobiologi mencakup identifikasi seperti ada atau tidaknya dan perhitungan jumlah atau kuantitas mikroorganisme dalam air. Dalam proses pengujian mikrobiologi membutuhkan berbagai teknik dan parameter untuk melihat jenis mikroorganisme patogen dan kuantitas atau jumlahnya (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2023)

### 1. Tujuan Pemeriksaan

Tujuan pemeriksaan air secara umum adalah untuk mendeteksi mikroorganisme salah satunya dengan menggunakan indikator adanya cemaran yang tujuannya untuk dapat menentukan apakah air tercemar secara mikrobiologi atau tidak dengan membandingkan hasil dengan standar yang berlaku (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2023).

## 2. Prinsip Pemeriksaan

Pemeriksaan mikrobiologi air adalah pengambilan sampel Penggunaan media kultur membantu perbanyak mikroorganisme dalam sampel air, memungkinkan identifikasi lebih lanjut. Deteksi indikator mikrobiologis, seperti coliform dan *Escherichia coli* (*E. coli*), memberikan gambaran tentang tingkat pencemaran air. Jenis jenis pengujian kualitas air (Sidjabat, 2021).

## B. Metode Pengambilan Sampel

Metode pengambilan sampel mikrobiologi prinsipnya adalah untuk memastikan sampel representatif dan tidak tercemar oleh wadah atau oleh hal lain saat pengambilan atau pengiriman sampel. Hal penting yang harus dicatat yaitu lokasi, waktu pengambilan dan parameter yang diuji serta wadah yang telah berisi sampel disegel agar tidak terkontaminasi saat pengiriman.

### 1. Air Minum

Tata cara pengambilan sampel untuk uji mikrobiologi air minum bergantung pada titik sampel yang akan diambil. Secara umum wadah yang digunakan untuk pengujian air mikrobiologi adalah menggunakan wadah yang steril agar tidak mencemari sampel. Wadah sampel untuk uji mikrobiologi biasanya menggunakan botol kaca yang dapat disteril. Tata cara pengambilan tergantung pada titik sumber yang akan diambil sampel air minum contohnya untuk *sampling* depot air minum atau air keran dilakukan pembilasan atau pembuangan air agar sampel tidak kontaminan selanjutnya botol yang telah disteril digunakan untuk mengisi air secara aseptik dan pastikan tidak ada sentuhan langsung dengan bagian dalam botol. Wadah yang telah berisi sampel label dan ditutup secara aseptik.

### 2. Badan Air

Metode pengambilan sampel di badan air yaitu melakukan analisis secara cermat tentang lokasi pengambilan sampel yang meliputi kedalaman dan lebar badan air yang

akan diukur (Badan Standarisasi Nasional, 2008). Teknik *sampling* untuk pengujian mikrobiologi menggunakan botol steril yang diberi tali dan pemberat. *Sampling* dengan menggunakan botol steril mengikuti acuan standar SNI tentang kedalaman. Botol steril yang digunakan untuk *sampling* diisi  $\frac{3}{4}$  penuh.

### 3. Pembuatan Media

Pada pembuatan media masuk menjadi parameter yang penting dalam persiapan pengujian mikrobiologi karena berkaitan dengan sterilitas media yang jika tidak steril akan menjadi sumber kontaminan. Tahapan pembuatan media untuk pengujian kualitas air atau media lainnya dimulai dengan menimbang media yang dibutuhkan jumlah yang tertera dalam etiket. Pelarutan jumlah dan pengadukan di atas *hot plate* kemudian sterilisasi pada autoklaf 121 derajat Celcius selama 15 menit. Kontrol kualitas media dapat dilakukan dengan penanaman media yang dihasilkan dan dieramkan pada inkubator dan dilihat pertumbuhan. Jika terjadi pertumbuhan tanpa pemberian bakteri maka telah terjadi kontaminan pada media yang dibuat jika tidak maka media dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya.

## C. Jenis Mikroba Indikator

Beberapa mikroba indikator pada air minum atau air bersih adalah (Rasidi *et al.*, 2023)

### 1. *Escherichia coli* (E. coli)

Merupakan bakteri kelompok *Enterobacteriaceae* yang mampu mengekspresikan enzim *BD glukoronidase* dan *B3 lactoksidase*.

### 2. *Coliform*

*Coliform* adalah salah satu indikator bakteri indikator cemaran kualitas air yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri coliform digunakan sebagai indikator kualitas air karena Merupakan bakteri yang hidup dalam usus manusia atau hewan. Pentingnya untuk memantau keberadaan bakteri *Coliform* untuk mematuhi untuk

memastikan bahwa air yang dikonsumsi oleh masyarakat tidak mengandung bakteri yang merupakan indikator pencemaran tinja. Bakteri coliform kelompok bakteri enterobacteria mampu mengeksikasikan enzim *BD galactosidase*

### 3. *Salmonella*

*Salmonella* merupakan salah satu bakteri kontaminan yang bisa ada di dalam air. *Salmonella* dalam air dapat bersumber dari tinja manusia hewan dan dapat masuk ke dalam air sebagai pencemar. Bakteri salmonella dalam air dapat menyebabkan infeksi gastrointestinal yang memberikan manifestasi seperti diare muntah dan demam. Air yang tercemar salmonella jika digunakan untuk pengolahan pangan dapat mencemari pangan (BPOM, 2019) (SNI, 2009).

### 4. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* dalam sampel lain dapat menjadi indikator pencemaran. Sumber pencemaran dapat berasal dari limbah manusia atau hewan yang mengandung bakteri *Staphylococcus aureus*. Meskipun sebagai logo harus umumnya diidentifikasi sebagai bakteri yang dapat menginfeksi melalui kulit akan tetapi dapat juga menyebabkan penyakit gastrointestinal melalui air yang terkontaminasi. Adanya salmonella dalam air juga diatur dalam standar nasional Indonesia tentang parameter salmonella di dalam air minum

### 5. *Pseudomonas aeruginosa*

## D. Metode Analisis

Berbagai metode analisis untuk uji mikroba dalam air. Pengujian yang dilakukan tujuannya untuk mencari mikroorganisme yang merupakan mikroorganisme dalam air. Beberapa metode diantaranya adalah sebagai berikut:

### 1. Pengujian Mikrobiologi Air Metode (*Most Probable Number*)

Pengujian Metode *Most Probable Number (MPN)* untuk deteksi adanya coliform, dan *Escherichia coli* dalam sampel

air. Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri golongan Enterobacter yang merupakan indikator kualitas air.

## 2. Metode Filtrasi

Prinsip pengujian sampel dengan membran akan mampu menyaring mikroorganisme dan tertinggal melekat pada membran penyaringan membran penyaringan. Kemudian dilekatkan pada permukaan agar homogenik *coliform*.

## 3. Metode Molekuler

Pengujian *Escherichia coli* (*E. coli*) dalam air secara molekuler dimulai dengan pengambilan sampel air dari sumber yang ingin diuji, seperti sumur atau sungai. Setelah itu, dilakukan ekstraksi DNA bakteri dari sampel menggunakan metode ekstraksi DNA, seperti kit ekstraksi komersial. Selanjutnya, DNA *E. coli* diamplifikasi dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer spesifik *E. coli*. Produk PCR kemudian dianalisis melalui gel elektroforesis untuk memeriksa keberadaan fragmen DNA yang sesuai dengan *E. coli*. Opsi deteksi fluoresen dapat digunakan untuk metode PCR real-time. Identifikasi akhir produk PCR sebagai *E. coli* dapat diverifikasi melalui teknik molekuler tambahan seperti sekuensing DNA. Jika perlu, metode PCR kuantitatif (qPCR) dapat digunakan untuk menentukan jumlah *E. coli* dalam sampel. Hasil akhir dari pengujian dilaporkan dengan interpretasi berdasarkan standar kualitatif atau kuantitatif yang telah ditetapkan (Nurliyana *et al.*, 2018).

## 1. Cara Uji Metode MPN

Persiapan sampel, tiga set tabung uji steril dengan masing-masing berisi lima tabung digunakan untuk mengalami dilusi serial dari sampel air yang diambil dengan hati-hati. Dilakukan proses dilusi sejumlah kali untuk mendapatkan seri dilusi yang berbeda. Kemudian, tabung-tabung diinokulasi dengan media pertumbuhan yang sesuai, diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai untuk

pertumbuhan mikroorganisme yang diuji, dan hasil pertumbuhan diamati melalui perubahan warna atau kekeruhan media. Jumlah tabung yang menunjukkan pertumbuhan positif dihitung untuk merujuk pada tabel MPN, yang memberikan estimasi jumlah mikroorganisme dalam sampel berdasarkan kombinasi tabung positif dalam setiap seri dilusi (Nurliyana *et al.*, 2018). Hasil MPN dilaporkan sebagai estimasi jumlah mikroorganisme per unit volume sampel air, dengan menyertakan informasi mengenai seri dilusi yang digunakan dan interpretasi tabel MPN (Elvi Rusmiyanto P.W, 2019).

## 2. Cara Uji Filtrasi

Prinsip pengujian sampel dengan membran akan mampu menyaring mikroorganisme dan tertinggal melekat pada membran penyaringan membran penyaringan. Kemudian dilekatkan pada permukaan agar homogenik coliform. Koloni yang tumbuh berwarna merah merupakan koloni yang menunjukkan positif *BD galaktosa* diduga sebagai bakteri koliform yang bukan *ecoli*. Uji penegasan untuk menentukan jenis *Coliform* dilakukan dengan menggunakan reaksi oksidasi dan harus menunjukkan hasil negatif.

Koloni terduga *E.coli* akan memberikan warna berwarna biru tua hingga Ungu yang menunjukkan reaksi positif Beta di glukoronidase dan *BD galaksidase*. Total dari bakteri yang berwarna merah dan berwarna ungu (Badan Standardisasi Nasional, 2015).

## 3. Cara Uji Air Berdasarkan Molekuler

Uji mikrobiologi air secara molekuler melibatkan beberapa tahapan yang terstruktur untuk mendeteksi dan mengidentifikasi mikroorganisme dalam sampel air. Tahapan pertama adalah pengambilan sampel air yang representatif. Selanjutnya, DNA atau RNA mikroorganisme diekstraksi dari sampel menggunakan teknik isolasi asam nukleat. Setelah itu, dilakukan amplifikasi gen spesifik mikroorganisme menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dapat

menggandakan secara eksponensial fragmen DNA target, memungkinkan deteksi lebih sensitif. Pada tahap berikutnya, deteksi dan identifikasi spesies mikroorganisme dilakukan dengan menganalisis hasil PCR menggunakan metode seperti elektroforesis gel agarosa atau teknik real-time PCR (Medlin and Orozco, 2017).

## E. Cara Kerja Analisis

*Metode Most Probable Number (MPN)* dengan pengujian menggunakan 5 tabung atau 3 tabung untuk menentukan jumlah bakteri *Coliform* dalam sampel air.

### 1. Pengujian Coliform Metode MPN 5 Tabung

#### a. Presumtif

Siapkan 5 tabung yang berisi media LBTS dan LBSS.

Uji penduga atau presumtif tes dilakukan dengan diambil sampel sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke tabung berisi 10 ml media LBTS dan ulangi tahapan hingga 4 tabung LBTS lainnya habis. Ambil sampel sebanyak masing-masing 1 ml, dimasukkan ke dalam 5 ml tabung media LBSS. Ambil lagi sampel sebanyak masing-masing 0,1 ml dan dimasukkan ke 5 ml tabung media LBSS. Amati terbentuknya gas dalam tabung Durham setelah inkubasi diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 37°C untuk tabung positif dilanjutkan ke uji penegasan.

#### b. Penegasan

Sampel positif yang ditunjukkan dengan terbentuknya gas. Dalam uji penduga diambil sampel sebanyak satu ose dan dimasukkan ke dalam tabung berisi 9 ml media BGLB dengan tabung Durham. Inkubasi pada 37 derajat Celsius selama 24 sampai 28 jam. Hasil uji dikatakan positif dengan terbentuknya gas dalam tabung Durham. Jumlah tabung gas positif dicocokkan dengan tabel number MPN yang menunjukkan angka bakteri *Coliform* positif.

## 2. Pengujian *Escherichia coli* dan *Coliform* Metode Filtrasi

- a. Uji *Coliform* siapkan sampel sebanyak 250 ml. Masukkan ke dalam alat unit filtrasi yang telah dimasukkan filter steril berukuran 0,45 mikrometer. Tuangkan sampel ke atas kertas saring sambil menghidupkan pompa filtrasi. Sampel akan mengalir melalui bagian bawah alat filtrasi dan mikroba akan tertinggal pada bagian permukaan kertas saring hingga sampel habis. Jepit kertas saring steril dan tempelkan di atas media *Chromogenic Coliform Agar* (CCA) yang telah disiapkan steril dan beku dalam cawan petri. Tutup cawan petri dan inkubasi pada 37 derajat celsius selama 24 jam. Koloni terduga *e coli* akan memberikan warna berwarna biru tua hingga Ungu yang menunjukkan reaksi positif beta di glukoronidase dan BD galaksidase. *Coliform* total dari bakteri yang berwarna merah dan berwarna ungu. Koloni terduga bakteri *coliform* yang bukan *E. coli* dilakukan konfirmasi dengan uji oksidase. Oksidase positif jika (Badan Standardisasi Nasional, 2015).
- b. Pembacaan Hasil Metode Filtrasi

Pembacaan hasil filtrasi dibaca diatas kertas saring dalam media yaitu terduga bakteri *E. coli* dengan koloni berwarna biru hingga ungu tua. Membedakan bakteri coliform yang bukan *E. coli* dilakukan uji oksidasi yaitu dengan kurang lebih 10 koloni berwarna merah muda di dimasukkan ke atas objek glass kemudian ditetaskan pereaksi oksidase sebanyak 2-3 tetes. Hasil positif oksidase yaitu warna biru (waktu sekitar 30 detik). Bakteri *Coliform* mempunyai oksidasi negatif. Reaksi oksidasi menggunakan *Tetra metil fenilen deamine dihidroklorida*.

## F. Kendali Mutu Pengujian Mikrobiologi

Kendali mutu pengujian mikrobiologi merupakan rangkaian tahapan yang didesain untuk memastikan tahapan pengujian yang tujuannya adalah memberikan jaminan mutu terhadap hasil analisa yang diperoleh (Maria tuntun siregar,

Wieke Sri Wulan, Doni Setiawan, 2018). Berapa tahapan yang diperlukan dalam upaya memberikan jaminan mutu adalah

1. Standar Operasional Prosedur (SOP)

Mengacu pada standar operasional prosedur. Seluruh tahapan pengujian yang dilakukan mulai dari persiapan alat pra analitik Analitik dan pasca analitik dilakukan dengan baju pada standar operasional prosedur di laboratorium

2. Pengendalian Bahan

Bukan dengan memastikan bahwa semua bahan/media uji dapat berfungsi dengan baik tidak Kedaluwarsa/*expired*.

Seluruh peralatan terkalibrasi

3. Kalibrasi

Kalibrasi dilakukan terhadap seluruh alat yang digunakan untuk analisa. Kalibrasi dilakukan secara rutin baik kalibrasi internal atau verifikasi maupun kalibrasi oleh pihak eksternal

4. Uji banding mutu laboratorium dengan uji profesiensi. Secara berkala badan standarisasi nasional akan melakukan uji koefisiensi dengan memberikan sampel yang telah diketahui jenis dan konsentrasinya kemudian dibelikan kepada laboratorium untuk kemudian dibandingkan dengan hasil uji sebenarnya yang Tujuannya adalah untuk mengevaluasi kinerja dan akurasi laboratorium.

## **G. Validasi dan Kontrol Mutu**

Validasi merupakan faktor penting dalam pengujian mikrobiologi untuk memastikan bahwa hasil sesuai dengan kondisi realnya. Validasi metode meliputi sensitif spesifik dan sesuai dengan persyaratan regulasi yang berlaku. Ada beberapa cara untuk validasi sampel mikrobiologi yaitu

1. Penggunaan kontrol positif dan negatif
2. melakukan penjaminan mutu internal atau PMI untuk menjamin kinerja laboratorium
3. Validasi prosedur untuk mencegah kontaminasi silang
5. Peralatan dan bahan wajib dilakukan serta dilakukan validasi untuk menjamin sterilitas dari alat dan bahan.

6. Pada penggunaan deteksi mikroba tertentu dalam mikrobiologi wajib melakukan validasi secara berkala dengan menggunakan baku banding emas.
7. Uji profesi personil untuk andalan dan kompetensi personil dalam melakukan pengujian mikrobiologi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standardisasi Nasional (2015) SNI 3554:2015 Cara Uji Air Minum Dalam Kemasan.
- Badan Standarisasi Nasional (2008) 'Air dan Air Limbah – Bagian 59: Metoda Pengambilan Contoh Air Limbah', Sni 6989.59:2008, 59, p. 19. Available at: [http://ciptakarya.pu.go.id/plp/upload/peraturan/SNI\\_-6989-59-2008-\\_Metoda-Pengambilan-Contoh-Air-Limbah.pdf](http://ciptakarya.pu.go.id/plp/upload/peraturan/SNI_-6989-59-2008-_Metoda-Pengambilan-Contoh-Air-Limbah.pdf).
- B POM (2019) 'Batas Maksimal Cemaran Mikroba Dalam Pangan Olahan Produk', Badan Pengawas Obat dan Makanan, pp. 1–48.
- Elvi Rusmiyanto P.W, D.A.R. (2019) 'Angka Paling Mungkin (Most Probable Number/MPN) Coliform Sampel Kue Bingke Berendam di Pontianak', Jurnal Protobiont, 8(1), pp. 64–68. Available at: <https://doi.org/10.26418/protobiont.v8i1.30864>.
- Maria Tuntun Siregar, Wieke Sri Wulan, Doni Setiawan, A.N. (2018) Kendali Mutu. Jakarta: Pusat Pendidikan Sumber Daya manusia Kesehatan.
- Medlin, L.K. and Orozco, J. (2017) 'Molecular Techniques For The Detection Of Organisms In Aquatic Environments, With Emphasis On Harmful Algal Bloom Species', Sensors (Switzerland), 17(5). Available at: <https://doi.org/10.3390/s17051184>.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia (2023) 'Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023', (Peraturan Pelaksanaan Peraturan Pemerintah Nomor 66 Tahun 2014 Tentang Kesehatan Lingkungan).
- Nurliyana, M.R. *et al.* (2018) 'The Detection Method of Escherichia coli in Water Resources: A Review', Journal of Physics: Conference Series, 995(1). Available at:

<https://doi.org/10.1088/1742-6596/995/1/012065>.

Rasidi, H. *et al.* (2023) *Air Bersih Gratis*. Bandung: Widiana Media Utama.

Sidjabat, F.N. (2021) 'Buku Saku Petunjuk Pengukuran Kualitas Air', (October), pp. 1-16. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/355212755>.

SNI (2009) 'Batas Maksimum Cemaran Logam Berat dalam Pangan', Badan Standardisasi Nasional, 7387, pp. 1-29.

# BAB 10

# DAYA ANTIBAKTERI BEBERAPA ANTISEPTIK

**Dr. Kristanti Parisihni, drg., M.Kes.**

## **A. Prinsip Dasar Kontrol Mikroba**

Pada bidang Mikrobiologi Kedokteran, upaya kontrol mikroba menjadi salah satu faktor penting dalam pencegahan transmisi penyakit infeksi. Strategi untuk pengendalian bakteri pada manusia dan lingkungannya adalah dengan melakukan upaya sterilisasi dan disinfeksi.

Agen antimikroba secara tradisional dibagi menjadi dua kelompok: antibiotik dan bahan biosida kimia lainnya. Pembadaan ini utamanya didasarkan pada kenyataan bahwa antibiotik secara historis hanya berasal dari mikroba, sedangkan biosida kimia adalah produk buatan, sintesis. Selain itu, antibiotik cenderung memiliki mekanisme aksi yang terdefinisi sedangkan biosida kimia menyebabkan kerusakan yang lebih umum dan tidak spesifik. Biosida kimia secara umum digunakan sebagai antiseptik, desinfektan dan pengawet (Hanlon & Hodges, 2013).

### **1. Definisi**

Sterilisasi adalah suatu upaya untuk mematikan atau menghilangkan seluruh mikroorganisme, termasuk spora bakteri yang memiliki tingkat ketahanan tinggi.

Disinfeksi adalah upaya untuk mematikan sebagian besar mikroorganisme, meskipun tidak semuanya. Untuk mencapai disinfeksi yang memadai, patogen harus mati,

tetapi beberapa organisme dan spora bakteri mungkin masih bertahan.

Jenis disinfektan bervariasi dalam sifat merusak jaringan, mulai dari senyawa yang mengandung fenol yang bersifat korosif dan sebaiknya digunakan hanya pada objek mati, hingga bahan yang kurang toksik seperti etanol dan iodine yang dapat digunakan pada permukaan kulit. Bahan kimia yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme pada permukaan kulit dan selaput mukosa dikenal sebagai antiseptik (Levinson *et al.*, 2018).

## **2. Sisi Target Utama**

Dibandingkan dengan antibiotik yang memiliki target yang cukup spesifik seperti sintesis peptidoglikan dinding sel, inhibisi sintesis protein, dan gangguan fungsi DNA, biosida kimia cenderung bertindak secara lebih umum. Mekanisme utamanya adalah melibatkan gangguan struktur dan fungsi dinding sel dan membran, penggumpalan intraseluler, serta modifikasi kimiawi pada protein seluler dan asam nukleat. Oleh karena itu, resistensi terhadap biosida cenderung terjadi lebih lambat dibandingkan dengan antibiotik.

## **3. Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Biosidal**

Interaksi biosida dengan target sel untuk menyebabkan kematian sel tersebut merupakan reaksi kimia, oleh karena itu, laju dan/atau tingkat reaksi tersebut diatur oleh prinsip-prinsip normal kimia. Faktor-faktor seperti suhu, konsentrasi, pH, kelarutan, dan sebagainya akan mempengaruhi aktivitas antimikroba (Hanlon & Hodges, 2013).

## **B. Mekanisme Umum Cara Kerja Biosida**

Antiseptik adalah salah satu biosida yang akan dibahas pada bab ini. Riedel *et.al* (2019) menyatakan mekanisme umum cara kerja biosida adalah sebagai berikut :

### **1. Gangguan pada Membran atau Dinding Sel**

Membran sel berperan sebagai penghalang yang selektif, memungkinkan beberapa larutan untuk melewati sementara yang lain dikeluarkan. Sejumlah senyawa diangkut secara aktif melalui membran dan menjadi terkonsentrasi di dalam sel. Membran juga menjadi tempat bagi enzim yang terlibat dalam pembentukan komponen sel. Zat-zat yang terkonsentrasi di permukaan sel dapat mengubah sifat fisik dan kimia membran, menghambat fungsi normalnya, sehingga dapat menyebabkan kematian atau hambatan dalam pertumbuhan sel. Dinding sel berfungsi sebagai kerangka yang melindungi sel dari lisis osmotik dan dapat diibaratkan sebagai jaring ikan. Oleh karena itu, agen yang merusak dinding (misalnya, lisozim, yang memotong ikatan gula peptidoglikan) atau mencegah sintesis normalnya (misalnya, penisilin, yang menghentikan ikatan silang peptidil) dapat menyebabkan lisis sel.

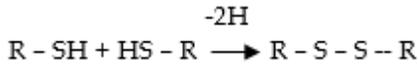
### **2. Denaturasi Protein**

Struktur protein adalah keadaan terlipat tiga dimensi yang ditentukan terutama oleh interaksi non-kovalen intramolekuler seperti ikatan ionik, hidrofobik, dan ikatan hidrogen atau ikatan disulfida kovalen. Hal ini dikenal sebagai struktur tersier protein, yang dapat dengan mudah terstabilkan oleh berbagai agen fisik, seperti panas, atau agen kimia, seperti alkohol. Kondisi ini dapat menyebabkan protein kehilangan fungsinya karena terganggunya struktur tersiernya. Perubahan struktur tersier protein yang disebabkan oleh faktor-faktor tersebut disebut denaturasi protein

### **3. Disrupsi pada Kelompok Sulfidil Bebas**

Enzim yang mengandung sistein memiliki ujung rantai yang berakhir pada gugus sulfhidril. Demikian pula, koenzim seperti koenzim A dan dihidrolipoat memiliki kelompok sulfhidril bebas. Enzim dan koenzim semacam itu tidak dapat berfungsi kecuali kelompok sulfhidril tetap bebas dan dalam keadaan tereduksi. Oleh karena itu, zat

pengoksidasi dapat mengganggu metabolisme dengan membentuk ikatan disulfida antara kelompok sulfhidril yang berdekatan:



Begitu juga dengan sejumlah logam, seperti ion merkuri, yang mengakibatkan gangguan dengan bersatu pada sulfhidril. Dikarenakan keberadaan banyak enzim yang memiliki sulfhidril di dalam sel, zat pengoksidasi dan logam berat memiliki potensi untuk menyebabkan kerusakan yang meluas.

#### 4. Kerusakan DNA

Beberapa agen fisik dan kimia beroperasi dengan merusak DNA; ini mencakup radiasi ionisasi, cahaya ultraviolet, dan bahan kimia yang reaktif terhadap DNA. Dalam kategori terakhir, terdapat agen alkilasi dan senyawa lain yang berikatan secara kovalen dengan basa purin dan pirimidin untuk membentuk aduk DNA atau ikatan silang antarurutan. Radiasi dapat menimbulkan kerusakan pada DNA melalui beberapa mekanisme: sebagai contoh, cahaya ultraviolet dapat membentuk ikatan silang antara pirimidin yang berdekatan pada satu atau dua untai polinukleotida, membentuk dimera pirimidin; sementara itu, radiasi ionisasi dapat menyebabkan patah pada untai tunggal dan ganda. Lesi pada DNA yang disebabkan oleh radiasi dan bahan kimia umumnya menyebabkan kematian sel dengan mengganggu proses replikasi DNA.

#### 5. Antagonisme Kimia

Gangguan yang diakibatkan oleh agen kimia terhadap interaksi normal antara suatu enzim khusus dan substratnya dikenal sebagai antagonisme kimia. Antagonis beroperasi dengan cara berikatan dengan bagian-bagian tertentu dari holoenzim, seperti apoenzim protein, aktivator mineral, atau koenzim, yang mengakibatkan hambatan terhadap pengikatan dengan substrat yang biasanya terjadi. Dalam

konteks ini, istilah "substrat" digunakan secara umum, mencakup situasi di mana inhibitor menyatu dengan apoenzim, sehingga menghambat pengikatan koenzim.

Antagonis bergabung dengan enzim karena adanya afinitas kimianya terhadap area penting pada enzim tersebut. Fungsi katalitik enzim bergantung pada afinitasnya terhadap substrat alaminya; oleh karena itu, senyawa apa pun yang memiliki kemiripan struktural dengan substrat dalam aspek yang krusial juga dapat memiliki afinitas terhadap enzim. Jika afinitas ini mencapai tingkat yang cukup tinggi, "analog" tersebut dapat menggantikan substrat normal dan menghambat terjadinya reaksi yang seharusnya terjadi.

Beberapa holoenzim termasuk ion mineral berperan sebagai jembatan baik antara enzim dan koenzim atau antara enzim dan substrat. Senyawa yang dengan mudah bergabung dengan mineral ini akan kembali mencegah lampiran koenzim atau substrat (misalnya, karbon monoksida dan sianida bergabung dengan atom besi dalam enzim yang mengandung heme dan mencegah fungsinya dalam respirasi).

Antagonis kimia dapat dengan mudah diklasifikasikan ke dalam dua kelompok utama: (a) antagonis dari proses penghasil energi dan (b) antagonis dari proses biosintetik. Kelompok pertama mencakup racun pada enzim pernapasan (seperti karbon monoksida, sianida) dan fosforilasi oksidatif (seperti dinitrofenol); sementara kelompok terakhir melibatkan analog asam amino dan asam nukleat. Dalam beberapa kasus, analog tersebut secara sederhana mencegah penggabungan metabolit normal, sedangkan dalam kasus lain, analog tersebut menggantikan metabolit normal dalam makromolekul, sehingga membuatnya tidak berfungsi.. Penggabungan p-fluoro fenilalanin sebagai pengganti fenilalanina dalam protein adalah contoh dari jenis antagonisme yang terakhir.

### C. Berbagai Antiseptik : Cara Kerja dan Kegunaannya

Kemampuan antiseptik dalam membunuh mikroorganisme sangat beragam. Penilaian kuantitatif dari perbedaan ini diungkapkan dalam bentuk koefisien fenol, yang merupakan perbandingan antara konsentrasi fenol dan konsentrasi agen yang diperlukan untuk mencapai jumlah pembunuhan yang sama dalam kondisi standar uji.

Secara umum, bahan biosida antiseptik bekerja dalam membunuh mikroorganisme melalui salah satu atau kombinasi dari tiga mekanisme berikut yaitu : (1) gangguan pada membran sel yang mengandung lipid, (2) modifikasi protein, atau (3) modifikasi DNA.

#### 1. Alkohol

Alkohol merupakan bahan yang efektif mengeluarkan air dari sistem biologis. Oleh karena itu, secara fungsional berperan sebagai "desikan cair." Alkohol etil, alkohol isopropil, dan n-propanol menunjukkan aktivitas antimikroba yang cepat dan meluas terhadap bakteri vegetatif, virus, dan jamur tetapi tidak bersifat sporisidal. Aktivitas mencapai puncaknya ketika mereka diencerkan ke konsentrasi 60–90% dengan air (Riedel *et al.*, 2019)

Etanol banyak digunakan untuk membersihkan kulit sebelum vaksinasi atau venipunktur. Etanol bertindak utamanya dengan mengacaukan struktur lipid dalam membran, tetapi juga mendenaturasi protein. Etanol memerlukan keberadaan air untuk aktivitas maksimal (yaitu, jauh lebih efektif pada 70% daripada pada 100%). Etanol 70% sering digunakan sebagai antiseptik untuk membersihkan kulit sebelum venipunktur. Namun, karena tidak seefektif senyawa yang mengandung yodium, sebaiknya digunakan sebelum mengambil kultur darah dan memasang kateter intravena. Etanol tidak akan membunuh spora bakteri dan oleh karena itu tidak dapat digunakan untuk sterilisasi (Levinson *et al.*, 2018).

## 2. Aldehid

Senyawa seperti glutaraldehida atau formaldehida seringkali digunakan untuk melakukan disinfeksi dan sterilisasi instrumen, endoskop, dan peralatan bedah pada suhu yang rendah. Secara umum, senyawa-senyawa ini diaplikasikan dalam bentuk larutan 2% untuk mencapai tingkat aktivitas sporisidal. Sebagian besar senyawa tersebut bersifat bakterisidal dan sporisidal (Riedel *et al.*, 2019)

Formaldehida, yang tersedia sebagai larutan 37% dalam air (formalin), merusak protein dan asam nukleat. Baik protein maupun asam nukleat mengandung kelompok -NH<sub>2</sub> dan -OH yang penting, yang merupakan situs utama alkilasi oleh kelompok hidrosimetil formaldehida. Glutaraldehida, yang memiliki dua kelompok aldehida reaktif, 10 kali lebih efektif daripada formaldehida dan kurang toksik. Di rumah sakit, itu digunakan untuk sterilisasi peralatan terapi pernapasan, endoskop, dan peralatan hemodialisis (Levinson *et al.*, 2018)

## 3. Bisguanid

Klorheksidin sering kali digunakan dalam proses mencuci tangan, produk oral, serta sebagai disinfektan dan pengawet. Meskipun senyawa-senyawa ini memiliki sifat bakterisidal, namun tidak memiliki sifat sporisidal. Mikobakteria, karena selaput sel mereka yang berlapis lilin yang unik, umumnya sangat tahan terhadap senyawa-senyawa ini (Riedel *et al.*, 2019)

## 4. Bisfenol

Bisfenol sering digunakan dalam sabun antiseptik dan cairan pencuci tangan. Secara umum, produk-produk tersebut memiliki aktivitas antimikroba yang mencakup berbagai jenis mikroorganisme, tetapi memiliki sedikit efek terhadap *P. aeruginosa* dan jamur. Sementara itu, Triclosan dan heksaklorofen bersifat bakterisidal dan bersifat sporostatik, bukan sporisidal.

## 5. Halogen

Agen pelepas klorin yang paling penting meliputi natrium hipoklorit, dioksid klorin, dan natrium dikloroisosianurat. Agen-agen ini bertindak sebagai agen pengoksidasi yang merusak aktivitas seluler protein. Efek bakterisidal dari senyawa-senyawa ini disebabkan oleh asam hipoklorit sebagai senyawa aktif. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, kelompok ini memiliki efek sporisidal. Iodium (I<sub>2</sub>) bersifat bakterisidal dan sporisidal dengan cepat. Iodofor seperti povidone-iodine adalah kompleks iodin dan agen solubilisasi atau pembawa, yang berfungsi sebagai reservoir I<sub>2</sub> aktif. (Riedel *et al.*, 2019)

## 6. Iodin

Iodin merupakan antiseptik kulit paling efektif yang digunakan dalam praktik medis dan sebaiknya digunakan sebelum mengambil kultur darah dan memasang kateter intravena karena kontaminasi dengan flora kulit seperti *Staphylococcus epidermidis* dapat menjadi masalah. Iodin, seperti klorin, adalah oksidan yang menonaktifkan enzim yang mengandung sulfhidril. Iodin juga berikatan secara khusus dengan residu tirosin dalam protein (Riedel *et al.*, 2019).

Iodine tersedia dalam dua bentuk yaitu : (1) Tincture of iodine, sebuah larutan 2% iodin dan kalium iodida dalam etanol, digunakan untuk mempersiapkan kulit sebelum pengambilan kultur darah. Karena tincture of iodine dapat menyebabkan iritasi pada kulit, sebaiknya dihilangkan dengan menggunakan alkohol. (2) Iodophor adalah kompleks iodin dengan deterjen yang sering digunakan untuk mempersiapkan kulit sebelum operasi karena kurang menyebabkan iritasi dibandingkan tincture of iodine. Povidone-iodine adalah iodophor yang umum digunakan sebagai antiseptik (Levinson *et al.*, 2018).

## 7. Fenol

Fenol adalah disinfektan pertama yang digunakan di ruang operasi (oleh Lister pada tahun 1860-an), tetapi jarang digunakan sebagai disinfektan pada masa kini karena terlalu kaustik. Klorheksidin adalah fenol yang diklorinasi yang banyak digunakan sebagai disinfektan tangan sebelum operasi ("*scrub* bedah") dan dalam membersihkan luka. Fenol tidak hanya merusak membran, tetapi juga mendenaturasi protein (Levinson *et al.*, 2018).

## 8. Klorin

Klorin digunakan sebagai disinfektan untuk membersihkan pasokan air dan untuk mengolah kolam renang. Ini juga merupakan komponen aktif dari hipoklorit (pemutih, clorox), yang digunakan sebagai disinfektan di rumah dan di rumah sakit. Klorin adalah agen pengoksidasi yang kuat yang membunuh dengan menghubungkan silang kelompok sulfhidril esensial dalam enzim untuk membentuk disulfida yang tidak aktif (Levinson *et al.*, 2018).

## 9. Logam Berat

Perak sulfadiazin (Ag<sup>+</sup>), yang merupakan gabungan dua agen antibakteri, yaitu Ag<sup>+</sup> dan sulfadiazin, memiliki cakupan aktivitas yang luas. Sifat penghambatannya utamanya berasal dari pengikatan pada komponen sel seperti DNA. Senyawa-senyawa ini tidak memiliki sifat sporisida (Riedel *et al.*, 2019).

Merkuri dan perak memiliki aktivitas antibakteri paling besar di antara logam-logam berat dan paling banyak digunakan dalam bidang kedokteran. Mereka bekerja dengan mengikat pada kelompok sulfhidril, sehingga menghambat aktivitas enzimatik. Thimerosal (Merthiolate) dan merbromin (Mercurochrome), yang mengandung merkuri, digunakan sebagai antiseptik kulit. Tetes perak nitrat efektif dalam mencegah konjungtivitis gonokokal neonatal (ophthalmia neonatorum). Perak sulfadiazin digunakan untuk mencegah infeksi luka bakar (Levinson *et al.*, 2018).

## 10. Hidrogen Peroksida

Hidrogen peroksida digunakan sebagai antiseptik untuk membersihkan luka. Efektivitasnya terbatas oleh kemampuan organisme untuk menghasilkan katalase, enzim yang menguraikan  $H_2O_2$ . (Gelembung yang dihasilkan ketika peroksida digunakan pada luka terbentuk oleh oksigen yang berasal dari pemecahan  $H_2O_2$  oleh katalase jaringan.) Hidrogen peroksida adalah agen pengoksidasi yang menyerang kelompok sulfhidril, dengan demikian menghambat aktivitas enzimatik (Levinson *et al.*, 2018).

## 11. *Quartenary Ammonium Compound Detergen*

Senyawa ini memiliki dua bagian dalam struktur molekulnya, satu bagian yang tidak menyukai air (hidrofobik) dan yang lainnya menarik air (hidrofilik). Deterjen kationik, adalah contoh senyawa amonium kuarterner (QAC), memiliki kegunaan sebagai antiseptik dan disinfektan, tidak bersifat sporisidal (Levinson *et al.*, 2018)

Deterjen adalah agen "*surface-active*" yang terdiri dari bagian hidrofobik yang larut dalam lemak dan berantai panjang, serta bagian hidrofilik yang bersifat polar, yang dapat berupa kation, anion, atau kelompok nonionik. Surfaktan ini berinteraksi dengan lipid di membran sel melalui rantai hidrofobik mereka dan dengan air di sekitarnya melalui kelompok polar mereka, sehingga mengganggu membran. Senyawa amonium kuarterner (misalnya, benzalkonium chloride) adalah deterjen kationik yang banyak digunakan untuk antiseptik kulit. Benzalkonium chloride adalah bahan aktif dalam Lysol, disinfektan yang umum digunakan untuk lantai dan permukaan lainnya (Riedel *et al.*, 2019).

## 12. Asam dan Alkali

Asam kuat dan alkali kuat bekerja dengan cara mendenaturasi protein sehingga menyebabkan kematian mikroorganisme. Meskipun sebagian besar bakteri rentan terhadap efek ini, perlu dicatat bahwa *Mycobacterium tuberculosis* dan mikobacteria lainnya cenderung memiliki

resistensi terhadap 2% NaOH. Zat ini umumnya digunakan di laboratorium klinis untuk meliquefy dahak sebelum dilakukan kultur terhadap organisme tersebut. Sebaliknya, asam-asam lemah seperti asam benzoat, propionat, dan sitrat sering digunakan sebagai pengawet makanan karena bersifat bakteriostatik. Efek dari asam-asam ini sebagian bergantung pada komponen organiknya (seperti benzoat), serta pada tingkat keasaman yang rendah (Levinson *et al.*, 2018).

#### D. Hubungan Konsentrasi Biosida dan Waktu pada Pemusnahan Antimikroba

Bila biosida digunakan untuk mempengaruhi populasi mikroba, penting untuk mempertimbangkan variabel waktu dan konsentrasi. Secara umum, dapat diperhatikan bahwa hubungan antara konsentrasi zat yang digunakan dan waktu yang diperlukan untuk membunuh sebagian populasi tertentu dapat dijelaskan dalam persamaan berikut:

$$C^n t = K$$

Dalam persamaan ini, C adalah konsentrasi biosida, t adalah waktu yang diperlukan untuk membunuh sebagian sel tertentu, dan n dan k adalah konstanta-konstanta. Persamaan ini menyatakan bahwa, misalnya, jika  $n = 6$  (seperti pada fenol), maka menggandakan konsentrasi obat akan mengurangi waktu yang diperlukan untuk mencapai tingkat inaktivasi yang sama sebanyak 64 kali lipat (Riedel *et al.*, 2019).

Pada konteks bahan biosida, digunakanlah istilah eksponen konsentrasi ( $\eta$ ) yang menjelaskan perubahan dalam tingkat pemusnahan mikroba seiring dengan perubahan konsentrasi.

Penghitungan dilakukan dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\eta = \frac{\log t_2 - \log t_1}{\log C_1 - \log C_2}$$

Dalam persamaan ini,  $C_1$  dan  $C_2$  mewakili konsentrasi agen yang diperlukan untuk membunuh inokulum standar dalam waktu  $t_1$  dan  $t_2$ . Eksponen konsentrasi  $n$  menggambarkan kemiringan garis ketika log waktu kematian ( $t$ ) dipetakan terhadap log konsentrasi ( $C$ ) (Hanlon & Hodges, 2013). Eksponen konsentrasi dari berbagai biosida yang umum digunakan dapat dilihat pada tabel 10.1

Tabel 10.1. Eksponen Konsentrasi Berbagai Antiseptik

Bahan Antimikroba	Eksponen Konsentrasi
Hidrogen peroksida	0,5
Merkuri	0,03 - 3,0
Iodin	0,9
Quaternary ammonium compound	0,8 - 2,5
Bisguanid polimerik	1,5 - 1,6
Klorheksidin	2
Fenol	4,0 - 9,9
Alkohol alifatik	6,0 - 12,7

(Hanlon & Hodges, 2013)

#### E. Mekanisme Reversal Aksi Biosida

Selain dari kinetika yang bergantung pada waktu dan konsentrasi, pertimbangan lain dalam aktivitas biokida melibatkan kemampuan reversal aktivitas antimikroba. Tabel 10.2 merangkum contoh mekanisme reversal aktivitas biosida. Netralisasi biosida perlu dipertimbangkan sebagai bagian dari strategi sterilisasi/disinfeksi.

Tabel 10.2. Mekanisme Reversal yang dapat Membalikkan Aktivitas Biosida

Mekanisme	Contoh
Penghilangan agen	Ketika sel yang dihambat oleh keberadaan agen bakteriostatik dihilangkan dengan menyiram permukaan atau melalui sentrifugasi yang menghapus bakteri dari zat bakteriostatik, sel-sel tersebut akan melanjutkan perkembangan normalnya
Kompetisi substrat	Jika suatu antagonis kimia tipe analog mengikat enzim secara reversibel, dimungkinkan untuk menggantinya dengan menambahkan konsentrasi tinggi substrat normalnya. Keadaan seperti ini disebut sebagai inhibisi kompetitif. Indeks antimikroba, yaitu rasio konsentrasi inhibitor terhadap konsentrasi substrat yang menghilangkan efek inhibisi, umumnya memiliki nilai yang sangat tinggi (antara 100 hingga 10.000). Hal ini menunjukkan bahwa enzim memiliki afinitas yang signifikan lebih besar terhadap analog daripada terhadap substrat normalnya.
Inaktivasi agen	Sebuah substansi seringkali dapat dinonaktifkan dengan menyuntikkan zat yang dapat berikatan dengannya ke dalam medium, sehingga mencegah interaksinya dengan komponen seluler. Sebagai contoh, ion merkuri dapat dinonaktifkan dengan menambahkan senyawa sulfhidril seperti asam tioglikolat ke dalam medium.

(Riedel *et al.*, 2019)

## DAFTAR PUSTAKA

- Hanlon G and Hodges N Hanlon, G., & Hodges, N. (2013). *Essential Microbiology for Pharmacy and Pharmaceutical Science* (J. A. Wiley & L. Sons (eds.); Fisrt). Wiley-Blackwell.
- Levinson, W., Chin-Hong, P., Joyce, E. A., Nusbsbaum, J., & Schwartz, B. (2018). *Review of Microbiology & Immunology A Guide to Clinical Infectious Diseases* (Fifteenth). <https://doi.org/10.5005/jp/books/13076>
- Riedel, S., Morse, S. A., Mietzner, T., & Miller, S. (2019). *The Science of Microbiology*. In *Mc Graw Hill* (28th ed.). McGraw Hill Lange.

## TENTANG PENULIS



**Najmah, M.Si.** lahir di Bima, pada 3 Juni 1994. Alumni dari Institut Pertanian Bogor pada jurusan Biokimia. Wanita yang kerap disapa Najm ini lahir dari pasangan Adam (ayah) dan Sitti Rahmah (ibu). Sejak tahun 2022, ia mengabdikan diri di jurusan kimia fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam Universitas Negeri Gorontalo.



**Asriyani Ridwan, S.ST., M.Biomed.,** Penulis dilahirkan di Padacenga Kabupaten Sidenreng Rappang pada tanggal 29 Mei 1993. Ketertarikan penulis terhadap ilmu mikrobiologi dimulai pada tahun 2011 silam. Hal tersebut membuat penulis memilih jurusan Analisis kesehatan, menempuh pendidikan Diploma III pada tahun 2011. Melanjutkan ke jenjang sarjana tahun 2015 di Universitas Setia Budi Surakarta. Melanjutkan pendidikan Magister di Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tahun 2017 dan selesai pada tahun 2019. Ditahun yang sama penulis bergabung menjadi dosen di Program Studi Analisis Kesehatan Stikes Panrita HusadaBulukumba hingga saat ini.



**Tacik Idayanti, S.ST, S.Si.** lahir di Sidoarjo, pada 18 Mei 1981. Ia tercatat sebagai lulusan Poltekkes Kemenkes Surabaya dan Universitas Adi Buana Surabaya. Wanita yang kerap disapa Tacik ini mulai mengabdikan diri sebagai Pegawai Negeri Sipil sejak 2006, yang diberi tugas sebagai Instruktur Praktikum Bakteriologi di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, PoltekkesKemenkes Surabaya. Saat ini sedang melanjutkan pendidikan S2 di Fakultas Ilmu Kedokteran Dasar Peminatan Mikrobiologi Universitas Airlangga.



**apt. Emelda, M.Farm.** lahir di Nagara, Kalimantan Selatan pada 22 Februari 1991. Ia tercatat sebagai lulusan S1 Farmasi (Tahun 2013), S2 Farmasi (tahun 2015) dan Profesi Apoteker (Tahun 2014) di Universitas Ahmad Dahlan. Wanita yang kerap disapa Emel ini adalah anak dari pasangan Bapak H.Muhammad Rafiq, M.pd. (ayah) dan ibu Siti Aminah (ibu). Saat ini bertugas sebagai Dosen tetap pada Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan Program Studi S1 Farmasi Universitas Alma Ata (UAA) Yogyakarta. Mata Kuliah yang sering diampu adalah pada bidang Biologi Farmasi seperti Farmakognosi, Mikrobiologi dan Fitokimia. Aktif menulis Artikel di Jurnal nasional terakreditasi dan juga berpartisipasi dalam jurnal Internasional terindekscopus.



**Ni Made Sri Dwijastuti, S.Si., M.Biomed.** lahir di Sibanggede, pada 12 September 1991. Riwayat Pendidikan diawali dengan menempuh Program Diploma III Analis Kesehatan di Poltekkes Denpasar, kemudian meraih gelar Sarjana Sains setelah menempuh Pendidikan S1 Biologi di Universitas Hindu Indonesia. Pendidikan terakhirnya yaitu Magister Ilmu Biomedik konsentrasi Ilmu Kedokteran Dasar di Universitas Udayana. Penulis merupakan dosen tetap di Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Universitas Bali Internasional.



**Dwi Setianingtyas, drg., Sp PM (K)** lahir dan menyelesaikan pendidikan Dokter Gigi serta Spesialis Penyakit Mulut di Surabaya. Merupakan praktisi di RSPAL dr Ramelan, menjadi dosen sekaligus peneliti di FKG UHT Surabaya. Hobinya membaca dan menulis. Sudah menghasilkan karya berupa buku yang diterbitkan oleh penerbit Andi. Buku tersebut berjudul: "Gigi.

Merawat dan menjaga kesehatan GIGI dan MULUT”. Disamping itu juga berhasil melakukan publikasi jurnal, baik nasional maupun yang berindeks Scopus. Pada tahun 2021 mendapat gelar sebagai konsultan infeksi dari kolegium ISPMI (Ikatan Spesialis Penyakit Mulut Indonesia).



**dr. Syandrez Prima Putra, M.Sc.** lahir di Payakumbuh, pada 6 Juni 1992. Ia menyelesaikan pendidikan profesi dokter di Universitas Andalas (2015) dan *Master of Science* (M.Sc) bidang Ilmu Kedokteran Tropis di Universitas Gadjah Mada (2021). Pria yang kerap disapa Aan ini adalah anak dari pasangan Syafruddin (ayah) dan Zar’aini Nazar (ibu). Saat ini ia aktif sebagai staf pengajar dan peneliti di Departemen Mikrobiologi dan Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.



**Dr. Dwi Krihariyani, S.Pd., S.Si., M.Kes** lahir di Lumajang pada tahun 1970. Wanita yang kerap disapa Dwi ini adalah seorang Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) yang telah menyelesaikan studinya pada program doktoral fakultas kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Pada tahun 1992-1996 pernah bekerja di laboratorium klinik “Biomedika” Jakarta, tahun 1996-1998 bekerja di laboratorium klinik “Pramita” Surabaya, tahun 1998-sekarang adalah seorang dosen di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya.



**Dr. Kristanti Parisihni, drg., M.Kes** lahir di Jogjakarta, pada tanggal 15 Maret 1968. Saat ini tinggal di Surabaya dan berkarya sebagai staf pengajar di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah. Selain mengajar dan aktif dalam organisasi profesi, ia memiliki hobi travelling, musik, nonton film dan sayang

kucing. Ia adalah seorang yang sangat percaya bahwa tulisan dengan spirit berpikir positif akan menarik spirit yang sama dan memberi kebaikan bagi orang yang membacanya.