

PERANCANGAN ALAT PENGHITUNG BAKTERI

Raden Candra Wijaya, Evrita Lusiana Utari, Yudianingsih

Prodi Teknik Elektro
Fakultas Sains & Teknologi
Universitas Respati Yogyakarta

Email : chandrajaya91@yahoo.com, evrita_lusiana@yahoo.com, nadia_yudia@yahoo.co.id

INTISARI

Pentingnya mengetahui perkembangan suatu bakteri dalam sampel diperlukan karena tingkat perkembangan bakteri berbeda-beda. Untuk menghitung jumlah perkembangan bakteri dilakukan menggunakan alat penghitung bakteri dengan metode hitung preparat. Alat penghitung bakteri dirancang dengan sistem akumulasi nilai/jumlah bakteri yang ditampilkan pada alat penghitung yang dilengkapi dengan sistem penanda dan sistem memori yang memungkinkan untuk menampilkan hasil hitung yang sebelumnya sebanyak 10 kali secara berurutan, bakteri yang ditampilkan merupakan perkiraan dari jumlah bakteri pada satu kotak dalam preparat menggunakan perbandingan preparat berukuran 4mm^2 dan preparat berukuran 9mm^2 dengan uji coba sampel yakni 0,2ml, 0,4ml, 0,6ml, 0,8ml, dan 1,0ml, dari kedua perbandingan penghitungan tersebut preparat berukuran 4mm^2 yang penghitungannya lebih akurat dalam penghitungan menggunakan 5 sampel dengan kapasitas yang berbeda.

Kata Kunci : Bakteri, Preparat, Sampel.

1. PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi di bidang kedokteran dewasa ini telah membawa dampak pada peningkatan kuantitas serta kualitas pelayanan kesehatan kepada masyarakat. Perkembangan teknologi komputasi telah merambah pula dunia kedokteran, telah menyentuh semua bidang kehidupan berkaitan dengan teknologi-teknologi lainnya, salah satunya perkembangan bakteri. Koloni bakteri adalah sekumpulan dari bakteri-bakteri yang sejenis yang mengelompok menjadi satu dan membentuk suatu koloni-koloni. Untuk mengetahui pertumbuhan suatu bakteri dapat dilakukan dengan menghitung jumlah koloni bakteri. Metode yang biasa digunakan adalah metode *pour plate* (Hitung Preparat).

Metode ini mengasumsikan jumlah bakteri yang ditanam pada suatu preparat sama dengan jumlah koloni pada preparat tersebut. Untuk memudahkan menghitung koloni yang berjumlah ratusan pada metode ini perhitungan dapat dilakukan dengan cara menghitung hanya seperempat pada

bagian preparat dengan hasil perhitungan jumlah perhitungan tersebut dikalikan empat. Perhitungan pada metode ini juga dibantu dengan alat yang disebut *Colony Counter*. Alat *Colony Counter* masih mengharuskan para peneliti pada laboratorium menghitung jumlah koloni secara manual. Pada alat *Colony Counter*, penghitungan jumlah koloni bakteri dipermudah dengan adanya *counter electronic*. Dengan adanya counter tersebut peneliti tinggal menandai koloni bakteri yang dihitung dengan menggunakan pen yang terhubung dengan *counter*.

Luas preparat berpengaruh pada hasil penghitungan bakteri, karena itu luas preparat efektif harus disesuaikan dengan ukuran bakteri yang akan dihitung, sehingga meminimalkan kemungkinan bakteri yang tidak terhitung dalam suatu proses

2. TINJAUAN PUSTAKA

Berdasarkan penelitian Adiprabowo dengan judul *Potensi Antibakteri Campuran Propolis Trigona Spp Dan Garamkelapa Terhadap Streptococcus Mutans*, metode hitungan cawan merupakan cara yang akurat untuk menentukan jumlah mikroba karena hanya sel

yang masih hidup yang dihitung. Selain itu, beberapa jenis mikrob dapat dihitung sekaligus dan dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikrob. Bakteri harus dapat tumbuh dalam medium padat dan membentuk koloni yang kompak dan jelas (tidak menyebar) dan memerlukan persiapan waktu inkubasi relatif lama sehingga pertumbuhan koloni dapat dihitung (Adiprabowo, 2008).

Menurut Fardiaz (1989), prinsip dari metode hitungan cawan adalah jika sel jasad renik yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat langsung dihitung menggunakan mata tanpa menggunakan mikroskop. Metode hitungan cawan dapat dibedakan atas dua cara yaitu metode tuang (*pour plate*) dan metode permukaan (*surface/spread plate*).

Dalam metode hitungan cawan, sampel yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel/ml memerlukan pengenceran sebelum ditumbuhkan di dalam cawan petri. Setelah inkubasi akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang masih dapat dihitung, dimana jumlah yang terbaik adalah diantara 30-300 koloni.

Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1:100, 1:1000 dan seterusnya, atau 1:100, 1:10000, 1:1000000 dan seterusnya. Larutan yang digunakan untuk pengenceran dapat berupa larutan NaCl 0.9% dan bufer fosfat. Jumlah koloni dalam contoh yang dihitung atau koloni/ml yaitu jumlah koloni per cawan dikali faktor pengenceran (Adiprabowo, 2008).

Berdasarkan penelitian Suyono dengan judul *Rancang Bangun Penghitung Koloni Selektif Berdasarkan Pigmen Fluoresin Pada Pseudomonas Aeruginosa*, program dibuat dengan *Visual Basic* dengan metode *plotting* (merajah) 24 bit menggunakan *pointer* (penunjuk) dan metode kuantifikasi menggunakan simulasi sel. Pengenalan

koloni dari dua parameter, yaitu bentuk dan warna. Pengenalan bentuk diperoleh dengan membentuk sel simulasi yang dinamakan "rad". Model sel berbentuk lingkaran ini akan melakukan pendekatan bentuk terhadap objek koloni bakteri. Metode seleksi koloni yang difungsikan dari warna terdiri atas beberapa metode, yaitu metode tunjuk warna, warna terpasang (mewakili semua koloni), dan *sampling* (mengambil cuplikan) warna (Suyono, 2009).

3. LANDASAN TEORI

Diperlukan dasar-dasar dan landasan teori yang dapat membantu penelitian perancangan alat penghitung bakteri. Dasar-dasar dan landasan teori didapat dengan melakukan studi literatur dan wawancara terhadap para ahli.

3.1 Bakteri

Kuantifikasi populasi mikroorganisme sering dilakukan untuk mendapatkan jumlah kuantitatif mikroorganisme target. Kuantifikasi tersebut dapat berupa penentuan jumlah sel dan penentuan massa sel. Penentuan jumlah sel dapat dilakukan pada mikroorganisme bersel tunggal. Penentuan massa sel dilakukan bagi mikroorganisme bersel tunggal dan mikroorganisme berfilamen.

Penghitungan jumlah sel dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya metode hitungan preparat (*Total Plate Count*) dan hitungan mikroskopis langsung (*Direct Count*). Cara lain penentuan jumlah sel adalah dengan menyaring sampel dengan saringan membran kemudian saringan tersebut diinkubasi pada permukaan media yang sesuai. Koloni-koloni yang terbentuk berasal dari satu sel tunggal yang dapat hidup.

Metode hitungan preparat menggunakan anggapan bahwa setiap sel akan hidup berkembang menjadi satu koloni. Jumlah koloni yang muncul menjadi indeks bagi jumlah organisme yang terkandung di dalam sampel. Teknik penghitungan

ini membutuhkan kemampuan melakukan pengenceran dan dipreparatkan hasil pengenceran. Preparat tersebut kemudian diinkubasi dan kemudian dihitung jumlah koloni yang terbentuk. Preparat yang dipilih untuk penghitungan koloni, sesuai dengan kaidah statistik. dalam suatu preparat biasanya berisi 30-300 koloni. Jumlah organisme yang terdapat dalam sampel asal dihitung dengan cara mengalikan jumlah koloni yang terbentuk dengan faktor pengenceran pada preparat bersangkutan.

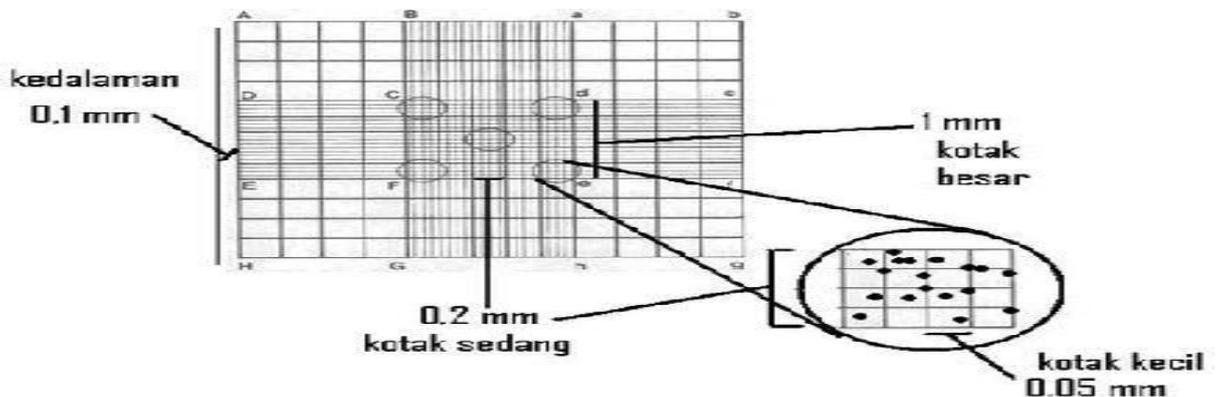
3.2 Sampel

Plate count / viable count didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel bakteri hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah ditumbuhkan dalam media pertumbuhan dan lingkungan yang sesuai. Setelah diinkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah mikroorganisme dalam suspensi tersebut. Koloni yang tumbuh tidak selalu berasal dari satu sel mikroorganisme yang

hal tersebut digunakan istilah *Coloni Forming Units* (CFU's) per ml. Koloni yang tumbuh berasal dari suspensi yang diperoleh menggunakan pengenceran bertingkat dari sebuah sampel yang ingin diketahui jumlah bakterinya.

3.3 Preparat

Penghitungan secara langsung dapat dilakukan secara mikroskopis yaitu dengan menghitung jumlah bakteri dalam satuan isi yang sangat kecil. Alat yang digunakan adalah *Petroff-Hauser Chamber* atau *Haemocytometer*. Jumlah cairan yang terdapat antara *coverglass* dan alat ini mempunyai volume tertentu sehingga satuan isi yang terdapat dalam satu bujur sangkar juga tertentu. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm². Satu kotak besar di tengah, dibagi menjadi 25 kotak sedang dengan panjang 0,2 mm. Satu kotak sedang dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian satu kotak besar tersebut berisi 400 kotak kecil. Tebal dari ruang hitung ini adalah 0,1 mm. Sel bakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume



karena beberapa mikroorganisme tertentu cenderung membentuk kelompok atau berantai. Berdasarkan

ruang hitung tersebut sehingga jumlah bakteri per satuan volume dapat diketahui.

Gambar 1 Ukuran preparat

3.4 Pewarnaan Bakteri

Teknik pewarnaan pada preparat sering menggunakan bahan kimia khusus atau sering disebut reagen untuk membedakan jenis bakteri yang akan dihitung agar lebih mudah dalam pemisahan jenis bakteri. Zat warna menyerap dan membiaskan cahaya sehingga kontras mikroorganisme dengan lingkungannya dapat ditingkatkan. Penggunaan zat pewarna memungkinkan pengamatan struktur *spora*, *flagella* dan bahan *inklusi* yang mengandung zat *pati* dan *granula fosfat*. Selain itu, dengan pewarnaan dapat menunjukkan distribusi dan susunan kimia bagian-bagian sel, membedakan mikrob satu dengan yang lain, menentukan pH dan potensial oksidasi reduksi ekstraseluler dan intraseluler.

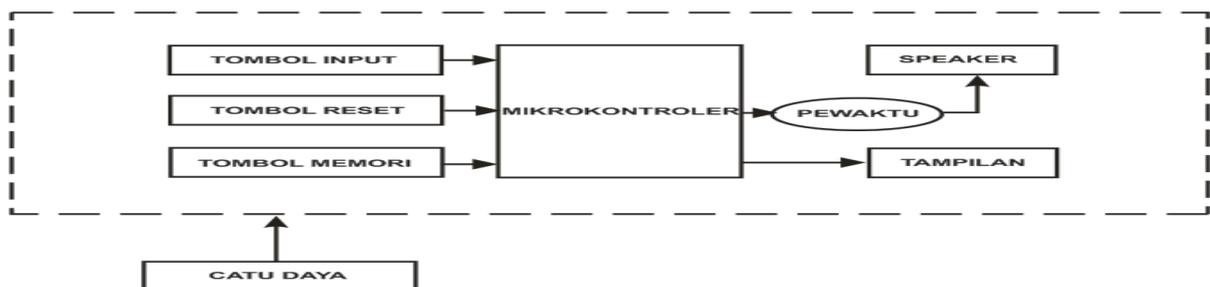
Pada umumnya zat warna yang digunakan adalah senyawa-senyawa garam yang salah satu ionnya berwarna. Garam terdiri ion bermuatan positif dan ion bermuatan negatif. Perbedaan inilah yang digunakan sebagai dasar pewarnaan mikroba tersebut. Sel-sel bakteri mempunyai muatan yang cenderung negatif bila pH lingkungannya mendekati netral. Muatan negatif dari sel bakteri akan bergabung dengan muatan positif dari ion zat warna, misalnya *metilen blue*, sehingga hasilnya sel tersebut akan berwarna. Perbedaan muatan inilah yang menyebabkan adanya ikatan atau gabungannya antara zat warna dengan sel bakteri.

3.5 Pembesaran Obyek

Mikroskop merupakan alat bantu yang memungkinkan kita dapat mengamati obyek yang berukuran sangat kecil (mikroskopis). Hal ini membantu memecahkan persoalan manusia tentang organisme yang berukuran kecil. Ada dua jenis mikroskop berdasarkan pada kenampakan obyek yang diamati, yaitu mikroskop dua dimensi (mikroskop cahaya) dan mikroskop tiga dimensi (mikroskop stereo). Sedangkan berdasarkan sumber cahayanya, mikroskop dibedakan menjadi mikroskop cahaya dan mikroskop elektron.

4. PERANCANGAN ALAT

Proses dari alat penghitung bakteri yakni dari listrik PLN 220V kemudian tegangan diturunkan oleh trafo menjadi 6V yang kemudian disearahkan menggunakan dioda untuk mencatu blok mikrokontroler dan blok penampil. Kemudian blok mikro menunggu info dari blok input dan mengolahnya untuk ditampilkan pada blok penampil. Pada blok input terdapat tombol yang dirangkai paralel yang bertujuan untuk info, bila salah satu atau lebih tombol on maka akan mentrigger dan memberi masukan untuk mikro. Kemudian mikro memberi inputan data melalui *port* data yang terdapat pada *port* D untuk ditampilkan pada *seven segment* di blok penampil, serta port C untuk mensupply *common* pada *seven segment* di blok penampil dapat dilihat pada Gambar 2.

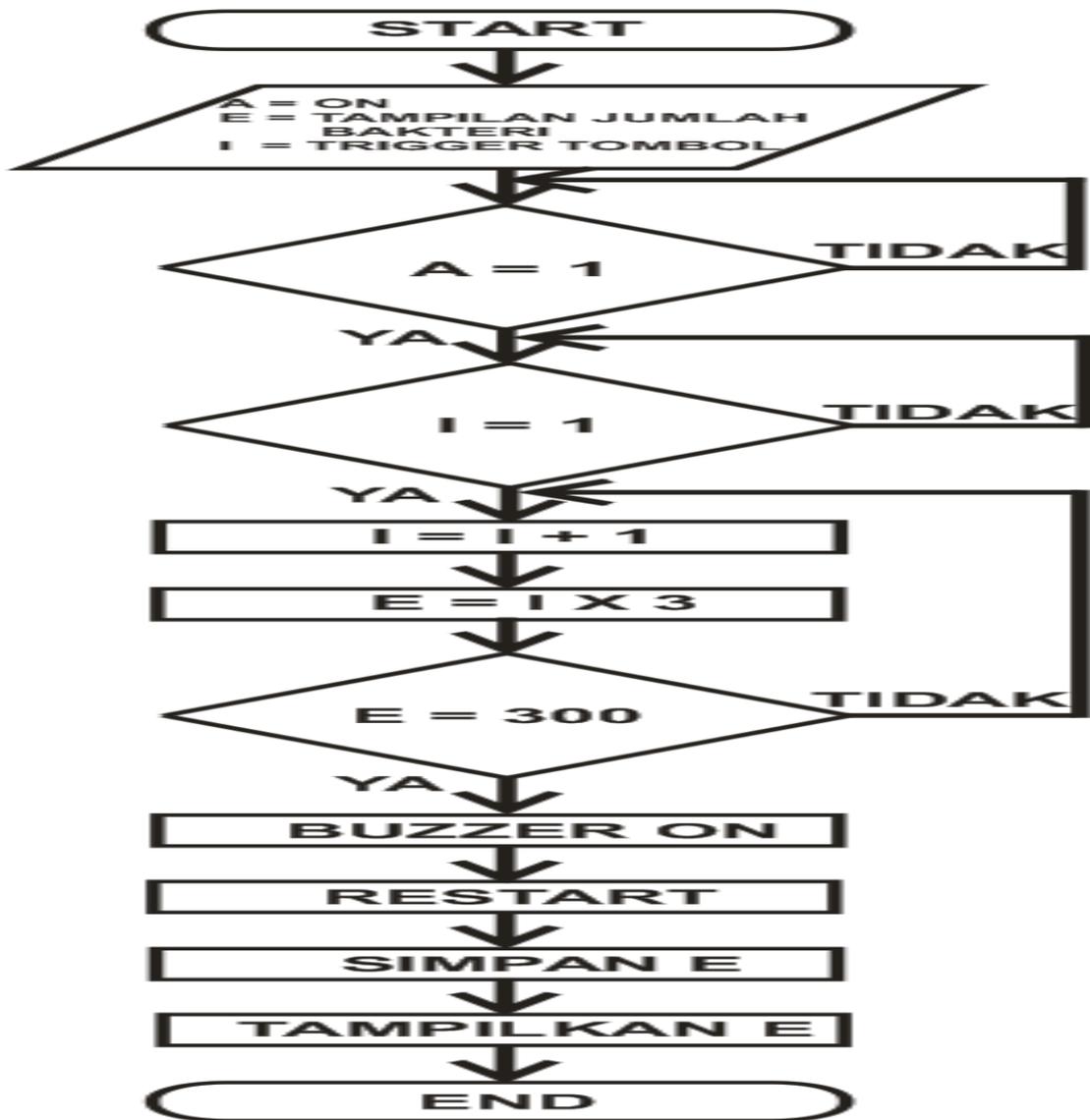


Gambar 2 Diagram Blok

Flow Chart

Prinsip kerja dari alat penghitung bakteri yakni setelah alat on maka indikator on, saat proses penghitungan setiap inputan akan dikalkulasikan dengan perkalian yang sebelumnya sudah diperhitungkan sehingga hasil dari perhitungan sudah berupa jumlah bakteri dan hasil perhitungan (*real time*) akan ditampilkan (penambahan angka/*count*) kemudian setelah tombol *restart*

ditekan tampilan akan kembali *blank*, dan hasil penghitungan sebelumnya akan disimpan, namun bila dalam penghitungan jumlah bakteri lebih dari 300 maka penanda akan aktif namun tidak berpengaruh terhadap hasil hitung, kemudian untuk menampilkan hasil perhitungan yang sudah dilakukan dengan menekan tombol memori, proses tersebut sesuai Gambar 3.



Gambar 3 Flow Chart Alat Penghitung Bakteri

6. ANALISA DATA

Pada uji coba ini bakteri yang digunakan adalah jenis-jenis bakteri dari air antara lain *Anabaena*, *Naegleria fowleri*, *Rotifera*, *Escherichia coli* yang yang sudah di dipisahkan atau dikelompokan menggunakan reagen untuk

dibedakan menggunakan pewarnaan untuk tiap jenis bakteri yang ditanam dengan ukuran terbesar dalam percobaan ini adalah bakteri *rotifera* dengan panjang 1mm dan ukuran paling kecil mencapai 1-60nm yakni bakteri *Anabaena*.

Sampel (ml)	Jumlah Bakteri	Ukuran Luas Pada Preparat (mm ²)		Keterangan
		4	9	
0,2	50	48	48	Penanda Tidak Aktif
0,4	160	156	138	Penanda Tidak Aktif
0,6	250	249	228	Penanda Tidak Aktif
0,8	330	315	324	Penanda Aktif
1,0	420	411	372	Penanda Aktif

Dari hasil uji coba penghitungan bakteri pada alat penghitung bakteri dengan menggunakan metode hitung langsung preparat diperoleh hasil dari perbandingan penghitungan menggunakan preparat berukuran 4mm² dengan penghitungan menggunakan preparat berukuran 9mm² yang dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Setelah proses penghitungan selesai kemudian masuk pada proses penjumlahan bakteri dalam suatu preparat menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah bakteri per ml} = \text{jumlah bakteri ditanam} \times \text{faktor pengenceran} \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{Jumlah bakteri dalam luas kotak} = \frac{\text{Jumlah Sel}}{\text{Hasil Penghitungan}} \dots\dots\dots(2)$$

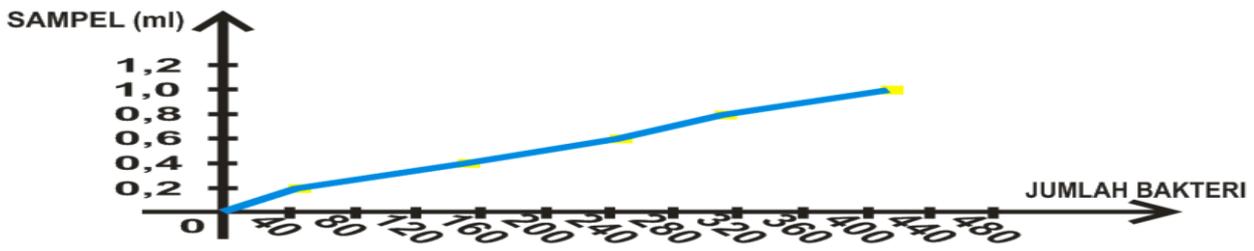
$$\text{Jumlah bakteri berkembang} = \Delta \text{kotak bakteri} \times \text{jumlah sel per kotak} \dots\dots\dots(3)$$

Proses penghitungan bakteri dilakukan secara manual berdasarkan ukuran preparat, kemudian setelah terhitung, proses penghitungan menggunakan persamaan-persamaan untuk mengetahui total bakteri yang berkembang pada suatu sampel.

Persamaan 1 digunakan sebelum proses inkubasi untuk menentukan banyaknya bakteri yang akan ditanam pada sebuah sampel, sedangkan pada Persamaan 2 digunakan untuk menentukan jumlah bakteri dalam skala suatu preparat dan untuk Persamaan 3 digunakan untuk menghitung berkembangnya bakteri pada suatu sampel.

6.1 Analisa Data

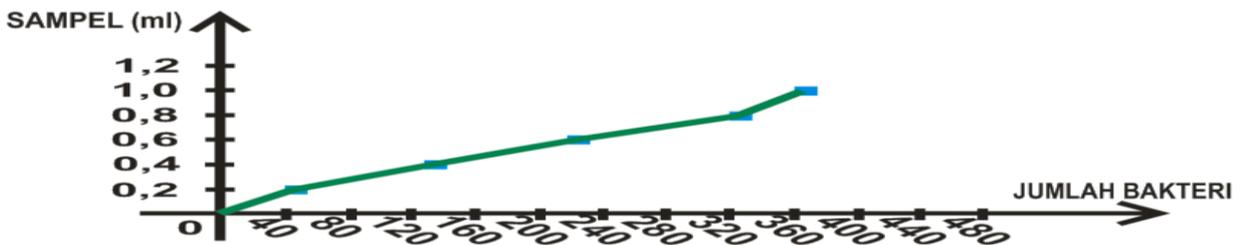
Korelasi antara sampel dalam satuan mili liter yang ditanam dengan ukuran cawan dan waktu berdasarkan dari data yang diambil dari Tabel 1 menghasilkan sebuah grafik seperti berikut :



Gambar 4 Grafik penghitungan menggunakan preparat ukuran 4mm²

Berdasarkan Gambar 4 penghitungan bakteri dilakukan dengan menggunakan preparat berukuran 4mm² mendekati jumlah penanaman bakteri yang sebenarnya, dengan catatan untuk penghitungan

bakteri dengan sampel 0,8ml dan 1,0ml lebih dari 300 bakteri, sehingga mengaktifkan penanda, sedangkan hasil penghitungan menggunakan preparat ukuran 9mm² dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5 Grafik penghitungan menggunakan preparat ukuran 9mm²

Berdasarkan Gambar 4.2 penghitungan bakteri dilakukan dengan menggunakan preparat berukuran 9mm² mendekati jumlah penanaman bakteri yang sebenarnya, dengan catatan untuk penghitungan bakteri dengan sampel 0,8ml dan 1,0ml lebih dari 300 bakteri, sehingga mengaktifkan penanda.

Dalam penghitungan bakteri menggunakan preparat diberlakukan sistem kotak yang berisi sampel kurang dari setengah dianggap kosong dan yang lebih dari setengah kotak dihitung satu juga diberlakukan pembulatan angka dan perhitungan tidak boleh melebihi dari bakteri yang ditanam, jadi nilai yang mendekatilah yang akan digunakan dalam perumusan/kalkulasi dari nilai jumlah yang terhitung dari preparat.

1. Alat Penghitung Bakteri merupakan alat yang dikembangkan dari penghitung (*counter*) manual pada mikroskop.
2. Alat Penghitung Bakteri dibuat untuk mempermudah dalam menghitung bakteri pada preparat karena bakteri yang sudah terhitung dapat ditandai dengan kasat mata dan alat ini dilengkapi dengan penyimpanan data secara otomatis dan dapat ditampilkan kembali, serta dilengkapi dengan sistem penanda sehingga proses penghitungan lebih praktis dalam pembatasan jumlah bakteri yang akan dihitung.
3. Hasil uji coba membuktikan, preparat berukuran 4mm² menghasilkan perhitungan 4 156/160, 249/250, 315/330, 411/420

7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari penelitian Alat Penghitung Bakteri, didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

dengan persentase kesalahan 2,7%, sedangkan pada preparat berukuran 9mm² menghasilkan perhitungan 48/50, 138/160, 228/250, 324/330,

372/420 dengan persentase kesalahan 8,42%, dari kedua perbandingan tersebut preparat berukuran 4mm² yang penghitungannya lebih akurat dalam penghitungan menggunakan 5 sampel dengan kapasitas yang berbeda.

7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk lebih menyempurnakan Alat Penghitung Bakteri adalah sebagai berikut :

1. Dilakukan kalibrasi dan pengujian oleh badan kalibrasi standar sehingga tingkat sensitifitas tombol dan ukuran cawan terstandar dan aman untuk digunakan dalam dunia medis.
2. Perlu pengembangan lanjut untuk keakuratan lebih tinggi dan prosentase kesalahan mendekati 0 seperti menggunakan sensor kamera ataupun pengembangan menggunakan aplikasi *smartphone* agar dapat digunakan masyarakat luas.

8. DAFTAR PUSTAKA

Adiprabowo H. 2008. Potensi antibakteri campuran propolis *trigona* spp dan garam kelapa terhadap *Streptococcus mutans*. Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Bishop, Owen. 2004. *Dasar-Dasar Elektronika*. Jakarta. Erlangga

Blocher, Richard. 2004. *Dasar Elektronika*. Yogyakarta : Andi.

Budiharto Widodo. 2008. *Panduan Praktikum Mikrokontroler AVR ATmega16*, PT Elex Media Komputindo, Jakarta.

Koesmadji Wirjosoemarto, dkk. Tth. Teknik Laboratorium. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.

Maturin, Larry and J. T. Peeler. 2001. *Aerobic Plate Count*, BAM (Bacteriological Analytical Manual), Chapter 3, Food and Drug Administration.

Sutton, Scott. 2006, *Counting Colonies*, http://www.microbiol.org/white.papers/WP.count_colony.htm. diakses pada 28 Mei 2014.

Sutton, Scott. 2006, *Harmonization of The Microbiological Limit Test – Enumeration*, http://www.microbiol.org/white.papers/WP.count_colony.htm. diakses pada 28 Mei 2014.

Suyono. 2009. *Rancang Bangun Penghitung Koloni Selektif Berdasarkan Pigmen Fluoresin Pada Pseudomonas Aeruginosa*. Skripsi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Fardiaz S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*, PAU Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

