

Research Articles

Pengaruh waktu penyimpanan inokulum *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada suhu dingin terhadap jumlah sel bakteri di Laboratorium Mikrobiologi

Rosmania^{1*}, Yuniar²

¹Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

²Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

Received 18 Februari 2021; Accepted 22 Juli 2021; Published 8 September 2021

<p>Keywords: Bacteria; Media; Inoculum; Plate count</p>	<p>ABSTRACT: Bacteria that have been grown in the media are often stored in cold non-freezing temperatures after treatment or before treatment. This is due to limited time in completing research and efficiency in terms of both media and time in making inoculums for further experiments so that research on this needs to be done. This research was conducted from April 2020 until October 2020, at the Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University, Indralaya. The research method used consists of several stages, namely preparation of purification media, reisolation suspension and Bacteria test, sterilization, purification of Bacteria test, reisolation of test Bacteria, preparation of suspension of tested bacteria, measurement of the number of bacteria using the plate count method. Storage time of <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> inoculum before storage (H0) and after being stored in the refrigerator (5 oC - 10 oC) with storage variations for 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 days had a significant effect to the value of the number of cells (Standard Plate Count) and the absorbance value. @2021 Published by UP2M, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University</p>
<p>Kata Kunci: Bakteri; Media; Inokulum; Hitungan Cawan</p>	<p>ABSTRAK: Bakteri yang sudah ditumbuhkan dalam media seringkali disimpan dalam suhu dingin non beku (refrigerator) setelah perlakuan atau sebelum perlakuan. Ini dikarenakan keterbatasan waktu dalam menyelesaikan penelitian dan efisiensi baik dari segi media dan waktu dalam pembuatan inokulum untuk percobaan lanjutan sehingga penelitian tentang ini perlu dilakukan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2020 sampai dengan bulan Oktober 2020, di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya. Metode penelitian yang digunakan terdiri dari beberapa tahapan, yaitu Pembuatan Media Pemurnian, Peremajaan, Suspensi dan Pengujian Bakteri, Sterilisasi, Pemurnian Bakteri Uji, Peremajaan Bakteri Uji, Pembuatan suspensi bakteri uji, Pengukuran jumlah bakteri secara metode hitungan cawan. waktu penyimpanan inokulum <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> sebelum disimpan (H0) dan setelah disimpan dalam lemari pendingin/ refrigerator (5 °C - 10 °C) dengan variasi penyimpanan selama 1, 2, 3, 4, 5. 6 dan 7 hari memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai jumlah sel (<i>Standard Plate Count</i>) dan nilai absorban. @2021 Published by UP2M, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University</p>

* Corresponding author.

E-mail address: rosmaniana83@gmail.com

PENDAHULUAN

Laboratorium adalah merupakan salah satu sarana pendukung penting yang bersifat sangat strategis dalam kegiatan pelaksanaan sistem pendidikan, khusus nya pada sistem pendidikan di perguruan tinggi yang digunakan untuk melaksanakan kegiatan pendidikan, penelitian, dan pengabdian kepada masyarakat. Dengan menggunakan peralatan, bahan dan metode keilmuan tertentu (Kertiasih, 2016).

Salah satu jenis laboratorium yang ada di perguruan tinggi adalah laboratorium mikrobiologi. Laboratorium mikrobiologi yaitu laboratorium yang di desain secara khusus untuk keperluan praktikum atau eksperimen yang berhubungan dengan mikrobiologi. Mikrobiologi adalah ilmu pengetahuan tentang kehidupan makhluk-makhluk kecil yang hanya kelihatan dengan mikroskop. Semua makhluk hidup yang berukuran beberapa mikron atau lebih kecil lagi disebut mikroorganisme atau mikroba yaitu bakteri, jamur, ragi/khamir, alga dan protozoa (Syauqi, 2017).

Di laboratorium Mikrobiologi, untuk menumbuhkan bakteri diperlukan suatu substansi yang sudah diatur komposisi nutrisinya, yaitu media. Media adalah suatu substansi yang komposisinya terdiri dari nutrisi tertentu yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat bakteri (Sutarna, 2000). Selain untuk menumbuhkan mikroba, medium dapat digunakan pula untuk isolasi, memperbanyak, pengujian sifat-sifat fisiologi dan perhitungan jumlah mikroba (Jutono, 1973).

Dalam pelaksanaan penelitian dan praktikum, bakteri yang sudah ditumbuhkan dalam media seringkali disimpan dalam suhu dingin non beku (refrigerator) setelah perlakuan atau sebelum perlakuan. Ini dikarenakan keterbatasan waktu dalam menyelesaikan penelitian dan efisiensi baik dari segi media dan waktu dalam pembuatan inokulum untuk percobaan lanjutan.

Pembuatan inokulum bakteri butuh persiapan yang panjang seperti pembuatan media, sterilisasi, peremajaan bakteri, pembuatan inokulum bakteri dan menghitung jumlah sel bakteri. Oleh karena ini lah, banyak mahasiswa penelitian dan juga untuk praktikum menyimpan kultur inokulum bakteri dalam suhu dingin non beku (refrigerator) pada suhu 6 - 10°C.

Setelah pembuatan inokulum/suspensi bakteri, jumlah sel bakteri nya dihitung terlebih dahulu sebelum digunakan untuk perlakuan

penelitian. Metode yang sering dipakai yaitu metode hitungan cawan karena merupakan cara yang paling sensitif untuk menghitung jumlah mikroba yaitu hanya sel yang masih hidup yang dihitung. Metode ini juga memiliki kelemahan yaitu membutuhkan persiapan dan waktu inkubasi beberapa hari untuk menghitung pertumbuhan koloni bakteri (Fardiaz, 1993). Sehingga, inokulum bakteri tersebut harus disimpan dulu dalam lemari pendingin supaya jumlah sel nya tidak bertambah. Tetapi tidak dihitung lagi jumlah sel bakteri nya setelah disimpan dalam lemari pendingin. Asumsi nya jumlah sel bakteri nya tidak berubah karena laju pertumbuhan bakteri terhenti.

Oleh karena itu, maka perlu dilakukan penelitian tentang Pengaruh Waktu Penyimpanan Inokulum *Escherichia coli* dan *Staphilococcus aureus* Pada Suhu Dingin Terhadap Jumlah Sel Bakteri. Bakteri uji yang akan digunakan adalah *Escherichia coli* dan *Staphilococcus aureus*. Bakteri ini sering digunakan untuk praktikum dan penelitian.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2020 sampai dengan bulan Oktober 2020, di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas sriwijaya, Indralaya.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Media Pemurnian, Peremajaan, Suspensi dan Pengujian Bakteri

- a. Media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) ditimbang 36 gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1 liter dalam Erlenmeyer 1000 ml kemudian dimasak sampai larut diatas hot plate *magnetic stirrer* yang ditandai dengan muncul nya gelembung air didasar erlenmeyer, alat dimatikan. Erlenmeyer diangkat dan mulut nya ditutup dengan kapas yang dibaluti dengan kain kasa dan ditutupi dengan aluminium foil.
- b. Media *Media Brain Heart Infusion (BHI) Agar*, ditimbang sebanyak 52-gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1 liter dalam Erlenmeyer 1000 ml kemudian dimasak sampai larut diatas hot plate *magnetic stirrer*. Setelah larut yang ditandai dengan larutan jadi jernih ada gelembung didasar erlenmeyer, alat dimatikan. Erlenmeyer diangkat dan mulut nya ditutup dengan kapas yang

- dibaluti dengan kain kasa dan ditutupi dengan aluminium foil.
- c. Media *Nutrient Agar* (NA), ditimbang sebanyak 20 gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1 liter dalam Erlenmeyer 1000 ml kemudian dimasak sampai larut diatas hot plate magnetic stirrer. Setelah larut yang ditandai dengan larutan jadi jernih ada gelembung didasar erlenmeyer, alat dimatikan. Erlenmeyer diangkat dan mulut nya ditutup dengan kapas yang dibaluti dengan kain kasa dan ditutupi dengan aluminium foil.
 - d. Media *Nutrient Broth* (NB), ditimbang sebanyak 8 gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1 liter dalam Erlenmeyer 1000 ml kemudian dimasak sampai larut diatas hot plate magnetic stirrer. Setelah larut yang ditandai dengan larutan jadi jernih ada gelembung didasar erlenmeyer, alat dimatikan. Erlenmeyer diangkat dan mulut nya ditutup dengan kapas yang dibaluti dengan kain kasa dan ditutupi dengan aluminium foil.

Sterilisasi

Media yang sudah dibuat di sterilisasi bersama dengan alat-alat lain yang akan dipakai seperti cawan petri, tabung reaksi, tip mikropipet. Di sterilisasi pakai alat Autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit.

Pemurnian Bakteri Uji

Media yang sudah disterilisasi, biarkan suhunya turun sampai $\pm 40^{\circ}\text{C}$ pada suhu ruang. Setelah itu, dimasukan kedalam cawan petri steril. Biarkan media padat dalam cawan petri ± 20 menit. Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* dan *Staphilococcus aureus*. Masing-masing bakteri diinokulasikan kedalam cawan petri secara kuadran 4. setelah dinokulasikan bakteri, cawan petri dibungkus dengan kertas, dimasukan ke dalam incubator secara terbalik pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Peremajaan Bakteri Uji

Koloni tunggal yang tumbuh pada media cawan diambil dengan jarum ose, diinokulasikan ke dalam media miring dalam tabung reaksi secara zig zag. Pekerjaan ini dilakukan dengan aseptik dekat dengan api bunsen. Tabung reaksi dibungkus dengan kertas, diinkubasi dalam incubator selama 1x24 jam.

Pembuatan suspensi bakteri uji

Kultur *Escherichia coli* dan *Staphilococcus aureus* yang digunakan diambil masing-masing 1 ose,

dimasukan dalam 25 ml media *Nutrient Broth* (NB) yang sudah disterilkan. Kemudian di inkubasi pada shaker incubator suhu 37°C , 120 rpm selama semalam.

Pengukuran jumlah bakteri secara metode hitungan cawan

Sebelum pengukuran jumlah bakteri, sudah disiapkan alat dan bahan steril untuk melakukan proses perhitungan bakteri. Suspensi bakteri uji diencerkan dari 10^{-1} sampai 10^{-7} dengan cara diambil 1 ml suspensi bakteri dengan mikropipet lalu dimasukan pada tabung pertama (10^{-1}) yang berisi 9 ml larutan NaCl fisiologi lalu di vortex sampai homogen. Selanjutnya diambil 1 ml lalu dimasukan ke dalam tabung kedua (10^{-2}) di vortex sampai homogen. Ini dilakukan terus sampai tabung ketujuh (10^{-7}). Setelah selesai pengenceran bertingkat, lalu diambil seri pengenceran 2 terakhir masing-masing diambil 100 μl dengan mikropipet dimasukan kedalam cawan petri steril kemudian tuangkan media Nutrient agar (NA) steril yang suhunya $\pm 40^{\circ}\text{C}$. homogenkan dengan cara memutar cawan diatas meja secara perlahan dengan gerakan seperti angka delapan. Biarkan ± 15 menit, kemudian cawan dibungkus dengan kertas dan di inkubasi dalam incubator secara terbalik suhu 37°C selama 1x24 jam (Fardiaz, 1993).

Menurut pendapat Wasteson and Hornes (2009) dalam Yunita *et al.* (2015) bahwa tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1 : 9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisma dari pengenceran sebelumnya.

Penghitungan populasi jumlah sel bakteri dilakukan dengan metode standard plate count (SPC) dengan ketentuan mengandung 30 - 300 koloni per cawan dengan rumus sebagai berikut :

$$\begin{aligned} & \text{Jumlah koloni per ml} \\ &= \frac{\text{Jumlah koloni} \times 1}{\text{Faktor pengenceran per cawan}} \end{aligned}$$

Variabel pengamatan

Variabel pengamatan yang diamati pada penelitian ini adalah jumlah sel bakteri uji sebelum

disimpan dalam suhu dingin dan setelah disimpan dengan waktu penyimpanan yaitu 1,2,3,4,5,6 dan 7 hari dalam suhu dingin (refrigerator).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh waktu penyimpanan inokulum *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebelum disimpan (H0) dan setelah disimpan dalam lemari pendingin/ refrigerator (5 °C - 10 °C) dengan variasi

penyimpanan selama 1, 2, 3, 4, 5, 6 dan 7 hari, dilakukan pengamatan nilai jumlah sel (*Standard Plate Count*) dan nilai absorban/kekeruhan (Yunita et al., 2015) ditampilkan pada Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3, Dan Tabel 4. Hasil analisis yang telah dilakukan menunjukkan bahwa lama waktu penyimpanan inokulum *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memberikan perbedaan nyata terhadap jumlah sel dan nilai absorban.

Tabel 1. Jumlah sel *Escherichia coli*

No	Waktu Pengamatan (Hari)	Ulangan (CFU/ml)			Rata-rata jumlah sel bakteri (CFU/ml)	Log Jumlah Sel (CFU/ml)
		I	II	III		
1.	H0	$2,5 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$	7,4
2.	H1	$2,3 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$	7,4
3.	H2	2×10^7	$2,2 \times 10^7$	$2,3 \times 10^7$	$2,2 \times 10^7$	7,3
4.	H3	$2,2 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	7,3
5.	H4	$2,1 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	2×10^7	7,3
6.	H5	$1,9 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	7,3
7.	H6	$5,3 \times 10^6$	8×10^6	$6,8 \times 10^6$	$6,8 \times 10^6$	6,8
8.	H7	3×10^6	$4,1 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$	$6,6 \times 10^6$	6,6

Peremajaan Bakteri

Pengaruh waktu penyimpanan pada suhu dingin memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah sel inokulum *Escherichia coli*. Rata-rata jumlah sel (*Standard Plate Count*) inokulum *Escherichia coli* terhadap pengaruh waktu penyimpanan pada suhu refrigerator terdapat pada Tabel 1. Nilai rata-rata jumlah sel (*Standard Plate Count*) yang diperoleh dari

hasil penelitian yaitu $2,4 \times 10^7$ CFU / mL (H0); $2,4 \times 10^7$ CFU / mL (H1); $2,2 \times 10^7$ CFU / mL (H2); $2,1 \times 10^7$ CFU / mL (H3); 2×10^7 CFU / mL (H4); $1,9 \times 10^7$ CFU / mL (H5); $6,8 \times 10^6$ CFU / mL (H6); dan $6,6 \times 10^6$ CFU / mL (H7). Nilai rata-rata jumlah sel (*Standard Plate Count*) terendah diperoleh pada pengamatan H7, sedangkan nilai rata-rata jumlah sel (*Standard Plate Count*) tertinggi didapat pada sebelum penyimpanan (H0).

Tabel 2. Jumlah sel *Staphylococcus aureus*

No	Waktu Pengamatan (Hari)	Ulangan (CFU/ml)			Rata-rata jumlah sel bakteri (CFU/ml)	Log Jumlah Sel (CFU/ml)
		I	II	III		
1.	H0	$1,2 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	7,1
2.	H1	$1,2 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	7,1
3.	H2	$1,1 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	1×10^7	$1,1 \times 10^7$	7
4.	H3	1×10^6	$1,2 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	7
5.	H4	4×10^6	$4,3 \times 10^6$	$5,6 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$	6,7
6.	H5	$3,9 \times 10^6$	4×10^6	$4,9 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$	6,6
7.	H6	$3,5 \times 10^6$	$3,4 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$	$3,6 \times 10^6$	6,6
8.	H7	$3,3 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$	3×10^6	$3,2 \times 10^6$	6,5

Pengaruh waktu penyimpanan pada suhu dingin memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah sel inokulum *Staphylococcus aureus*. Rata-rata jumlah sel (*Standard Plate Count*) inokulum

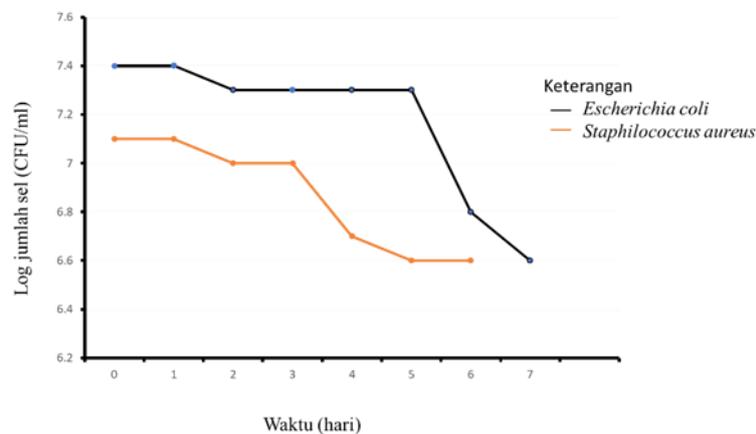
Staphylococcus aureus terhadap waktu penyimpanan pada suhu refrigerator terdapat pada Tabel 2. Nilai rata-rata jumlah sel (*Standard Plate Count*) yang diperoleh dari hasil penelitian yaitu $1,3 \times 10^7$ CFU / mL

(H0); $1,2 \times 10^7$ CFU / mL (H1); $1,1 \times 10^7$ CFU / mL (H2); $1,1 \times 10^6$ CFU / mL (H3); $4,5 \times 10^6$ CFU / mL (H4); $4,3 \times 10^6$ CFU / mL (H5); $3,6 \times 10^6$ CFU / mL (H6); dan $3,2 \times 10^6$ CFU / mL (H7). Nilai rata-rata jumlah sel (*Standard Plate Count*) *Staphylococcus aureus* terendah diperoleh pada pengamatan H7, sedangkan nilai rata-rata jumlah sel (*Standard Plate Count*) tertinggi didapat pada sebelum penyimpanan (H0).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang termasuk kedalam kelompok psikrofilik yang mampu tumbuh pada suhu rendah ($< 5 - 7$ °C) dengan suhu optimum (30 - 37 °C) (Gnanamani, 2016; Harris, 2002; Karimela, 2017; Yilmaz, 2010). Bakteri ini tergolong anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerobik (Pelczar dan chan, 2005). Selain itu, bakteri ini juga mempunyai

sifat yang tahan garam dan tumbuh baik pada medium yang mengandung 7.5 % NaCl serta dapat memfermentasi mannitol (Fardiaz, 1993).

Fase adaptasi *Staphylococcus aureus* adalah saat dimana fase penyesuaian bakteri terhadap substrat dan kondisi lingkungan di sekitarnya dan belum terjadinya pembelahan sel karena beberapa enzim belum disintesis. Jumlah sel pada fase ini mengalami tetap, namun kadang kala menurun. Pada penelitian ini berdasarkan jumlah sel (*Standard Plate Count*) *Staphylococcus aureus* yang diperoleh, fase adaptasi dimulai pada hari ke-0 hingga hari ke-7. Menurut Hasan dan Wikandari (2018), menyatakan bahwa setelah beradaptasi dengan lingkungannya, bakteri akan mengalami peningkatan jumlah sel yang berlangsung cepat dalam fase log (eksponensial).



Gambar 1. Pengaruh lama penyimpanan terhadap jumlah sel suspensi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Jumlah sel inokulum *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dipengaruhi oleh waktu penyimpanan dan suhu penyimpanan. Menurut Gnanamani (2016); Pratiwi (2008), menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh suhu dan lama waktu simpan. Pada penelitian ini peneliti melakukan uji waktu penyimpanan dari hari ke-0 hingga hari ke-7, Fitrianto (2020) pada hari 0 hingga dua minggu adalah masa pertumbuhan bakteri sehingga nilai rata-rata jumlah sel yang diperoleh belum optimal.

Pada Tabel 3 dan Tabel 4 menunjukkan nilai absorban inokulum *Escherichia coli* dan

Staphylococcus aureus yang memberikan pengaruh nyata terhadap terhadap waktu penyimpanan pada suhu dingin. Rata-rata nilai absorban (OD) inokulum *Escherichia coli* terhadap waktu penyimpanan pada suhu *refrigerator* terdapat pada tabel 4.3. Rata-rata nilai absorban (OD) *Escherichia coli* yang diperoleh dari hasil penelitian yaitu 0,109 (H0); 0,109 (H1); 0,112 (H2); 0,117 (H3); 0,121 (H4); 0,124 (H5); 0,132 (H6); dan 0,137 (H7). Nilai rata-rata absorban terendah diperoleh dari H0 dan H1, sedangkan nilai rata-rata absorban tertinggi didapat pada sebelum penyimpanan (H7).

Tabel 3. Nilai Absorban *Escherichia coli*

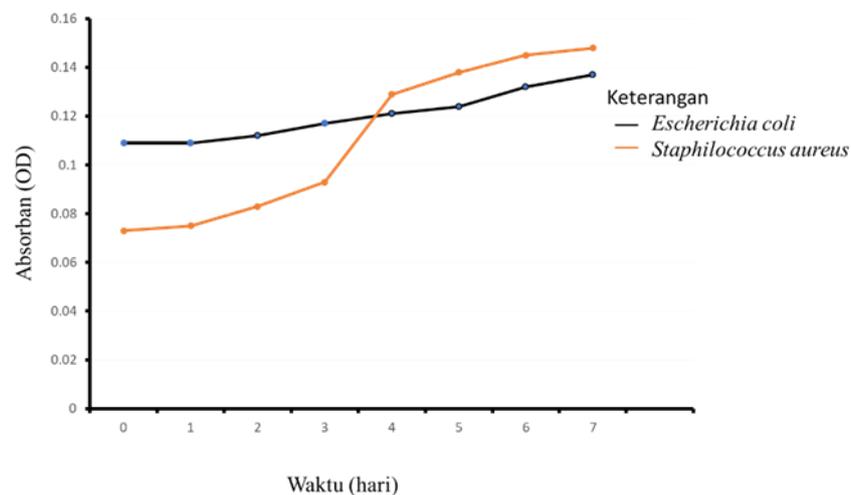
No	Waktu Pengamatan (Hari)	Ulangan (OD)			Rata - rata nilai Absorban (OD)
		I	II	III	
1.	H0	0,111	0,101	0,116	0,109
2.	H1	0,110	0,104	0,113	0,109
3.	H2	0,115	0,115	0,105	0,112
4.	H3	0,124	0,110	0,119	0,117
5.	H4	0,120	0,122	0,122	0,121
6.	H5	0,127	0,125	0,121	0,124
7.	H6	0,135	0,128	0,133	0,132
8.	H7	0,144	0,132	0,136	0,137

Pengaruh waktu penyimpanan pada suhu dingin memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai absorban (OD) inoculum *Staphylococcus aureus*. Rata-rata nilai absorban (OD) inoculum *Staphylococcus aureus* terhadap pengaruh waktu penyimpanan pada suhu *refrigerator* terdapat pada Tabel 4. Nilai rata-rata absorban (OD) *Staphylococcus*

aureus yang diperoleh dari hasil penelitian yaitu 0,073 (H0); 0,075 (H1); 0,083 (H2); 0,093 (H3); 0,129 (H4); 0,138 (H5); 0,145 (H6); dan 0,148 (H7). Nilai rata-rata absorban (OD) terendah diperoleh pada pengamatan H0, sedangkan nilai rata-rata absorban (OD) tertinggi didapat pada saat sebelum dilakukan penyimpanan (H7).

Tabel 4. Nilai Absorban *Staphylococcus aureus*

No	Waktu Pengamatan (Hari)	Ulangan (OD)			Rata - rata nilai Absorban (OD)
		I	II	III	
1.	H0	0,074	0,075	0,071	0,073
2.	H1	0,071	0,076	0,079	0,075
3.	H2	0,081	0,083	0,086	0,083
4.	H3	0,090	0,091	0,097	0,093
5.	H4	0,125	0,130	0,131	0,129
6.	H5	0,130	0,139	0,146	0,138
7.	H6	0,141	0,149	0,144	0,145
8.	H7	0,148	0,141	0,155	0,148

Gambar 2. Nilai kekeruhan (OD) terhadap lama penyimpanan suspensi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kelangsungan hidup organisme uji. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Adhikari et al. (2018), bahwa terdapat pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap viabilitas beberapa bakteri patogen (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*) bawaan makanan yang diinokulasi ke dalam keju susu sapi pasteurisasi kalengan, yaitu pada saat penyimpanan suhu 4.4 °C pada waktu penyimpanan 0 – 30 hari mengalami penurunan drastis yang dapat dilihat berdasarkan nilai viabilitas jumlah sel bakteri.

Pada saat suhu penyimpanan inoculum bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menurun atau dingin, maka bakteri berusaha untuk mengatasi stress lingkungan tersebut. Menurut Russel (1990), bakteri mengembangkan mekanisme untuk mengatasi stress lingkungan dengan memodifikasi membrane untuk menjaga fluiditas membrane. Ketika suhu pertumbuhan menurun, komposisi lipid membrane berubah menjadi asam lemak tak jenuh yang lebih pendek dan / atau tak jenuh.

Menurut Gao et al. (2007), bakteri *E. coli* sensitif terhadap pembekuan. Pada saat penyimpanan di suhu dingin atau beku/ freezing, terjadi pengurangan log jumlah sel yang signifikan sebagai akibat dari kerusakan atau cedera sel yang fatal. Tingkat inaktivasi meningkat secara signifikan ketika waktu penyimpanan beku ditingkatkan menjadi 2 hari.

Waktu penyimpanan inoculum berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Semakin lama waktu penyimpanan pada nutrisi didalam media akan berkurang. Menurut Chung et al. (2006), bahwa ketika mikroorganisme mengalami kekurangan nutrisi atau kondisi kelaparan, mereka meresponsnya dengan menghentikan semua aktivitas metabolisme dan pertumbuhan.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa waktu penyimpanan inoculum *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebelum disimpan (H0) dan setelah disimpan dalam lemari pendingin/ refrigerator (5 °C - 10 °C) dengan variasi penyimpanan selama 1, 2, 3, 4, 5, 6 dan 7 hari memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai jumlah sel (*Standard Plate Count*) dan nilai absorban.

SARAN

Perlu diketahui lebih lanjut mengenai waktu maksimal penyimpanan yang lebih lama untuk mengetahui fase puncak terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

REFERENSI

- [1] Adhikaria, A., K. Yemmireddy, V., J. Costello, M., M. Gray, P., Salvadalen, R., Rascob, B., Killinger, K. 2018. Effect of storage time and temperature on the viability of *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, and *Clostridium sporogenes* vegetative cells and spores in vacuum-packed canned pasteurized milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*. Vol 286 (2018): 148-154.
- [2] Chung, H.J., Bang, W., Drake, M.A. Stress Response of *Escherichia coli*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety Journal*. Vol. 5 (2006): 52-64.
- [3] Fardias, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- [4] Gao, W., Smith, D.W., Li, Y. 2007. Effects of Freezing on the Survival of *Escherichia coli* and *Bacillus* and Response to UV and Chlorine After Freezing. *Journal of Water Environment Research*. Volume 79 (5): 507-513
- [5] Hwang, J.M.D., Toni, E., Piccinini, J. Lammel, C., Keith, H.W., F. Brooks, G. 1986. Effect of Storage Temperature and pH on the Stability of Antimicrobial Agents in MIC Trays. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol 23 (5): 959-961.
- [6] Jones, T., Gill, C.O., McMullen, L.M. 2004. The behaviour of log phase *Escherichia coli* at temperatures that fluctuate about the minimum for growth. *Journal of Letters in Applied Microbiology*. Vol. 39(2004): 296–300
- [7] Jutono, Soedarsono, J., Hartadi, S., Kabirun, S., Suhadi, dan Soesanto. 1972. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Offset Gadjah Mada University Press.
- [8] Kertiasih, N. L. P. 2016. Peranan Laboratorium Pendidikan untuk Menunjang Proses Perkuliahan Jurusan Keperawatan Gigi Poltekkes Denpasar. *Jurnal Kesehatan Gigi*. Vol. 4(2): 59-66.
- [9] Muwarni, S. 2015. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Veteriner*. Malang: UB Press.

- [10] Nedwell, D.B. 1999. Effect of low temperature on microbial growth: lowered activity for substrates limits growth at low temperature. *Journal of FEMS Microbiology Ecology*. Vol. 30 (1999): 101-111.
- [11] Pelczar, M. J. J. dan Chan, E. C. S. 2013. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- [12] Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- [13] Russell N. 1990. Cold adaptation of microorganisms. *Phil Trans R Soc (Lond)* 436:595–611.
- [14] Sutarma, 2000. *Kultur Media Bakteri*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- [15] Syauqi, A. 2017. *Mikrobiologi Lingkungan Peranan Mikroorganisme dalam Kehidupan*. Yogyakarta: ANDI Offset.
- [16] Yunita, M., Hendrawan, Y., dan Yulianingsih, R. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) Dengan Metode *Pour Plate*. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*. Vol. 3(3): 237-248.