



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH FREKUENSI SUARA DALAM RENTANG
AUDIOSONIK SECARA BERSELING TERHADAP
VIABILITAS *Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

**RICKY
0806324394**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PENDIDIKAN DOKTER UMUM
JAKARTA
JULI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH FREKUENSI SUARA DALAM RENTANG
AUDIOSONIK SECARA BERSELING TERHADAP
VIABILITAS *Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran**

**RICKY
0806324394**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PENDIDIKAN DOKTER UMUM
JAKARTA
JULI 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Ricky
NPM : 0806324394

Tanda Tangan : 
Tanggal : 28 Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Ricky
NPM : 0806324394
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Judul Skripsi : Pengaruh Tingkat Frekuensi Suara dalam Rentang
Audiosonik Secara Berseling terhadap Viabilitas
Pseudomonas aeruginosa

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Program Studi Pendidikan Dokter Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dra. Conny Riana Tjampakasari, MS, DMM (..........)
Penguji : Dra. Conny Riana Tjampakasari, MS, DMM (..........)
Penguji : Dr. Dra. Beti Ernawati Dewi, S.si, PhD (..........)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 28 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti panjatkan kepada Tuhan YME karena atas berkat dan rahmat-Nya peneliti berhasil menyelesaikan penelitian “Pengaruh Tingkat Frekuensi Suara dalam Batas Pendengaran Secara Berseling terhadap Viabilitas *Pseudomonas aeruginosa*”. Penelitian ini dibuat sebagai salah satu syarat kelulusan tingkat Sarjana Kedokteran pada Program Pendidikan Dokter Umum Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Banyak hal yang mempengaruhi viabilitas bakteri, salah satunya adalah pemaparan tingkat frekuensi suara tertentu. Penelitian serupa sudah pernah dilakukan dengan menggunakan frekuensi suara ultrasonik. Oleh karena itu, peneliti menggunakan frekuensi suara dalam rentang lain dengan harapan mengetahui pengaruhnya terhadap viabilitas bakteri.

Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada:

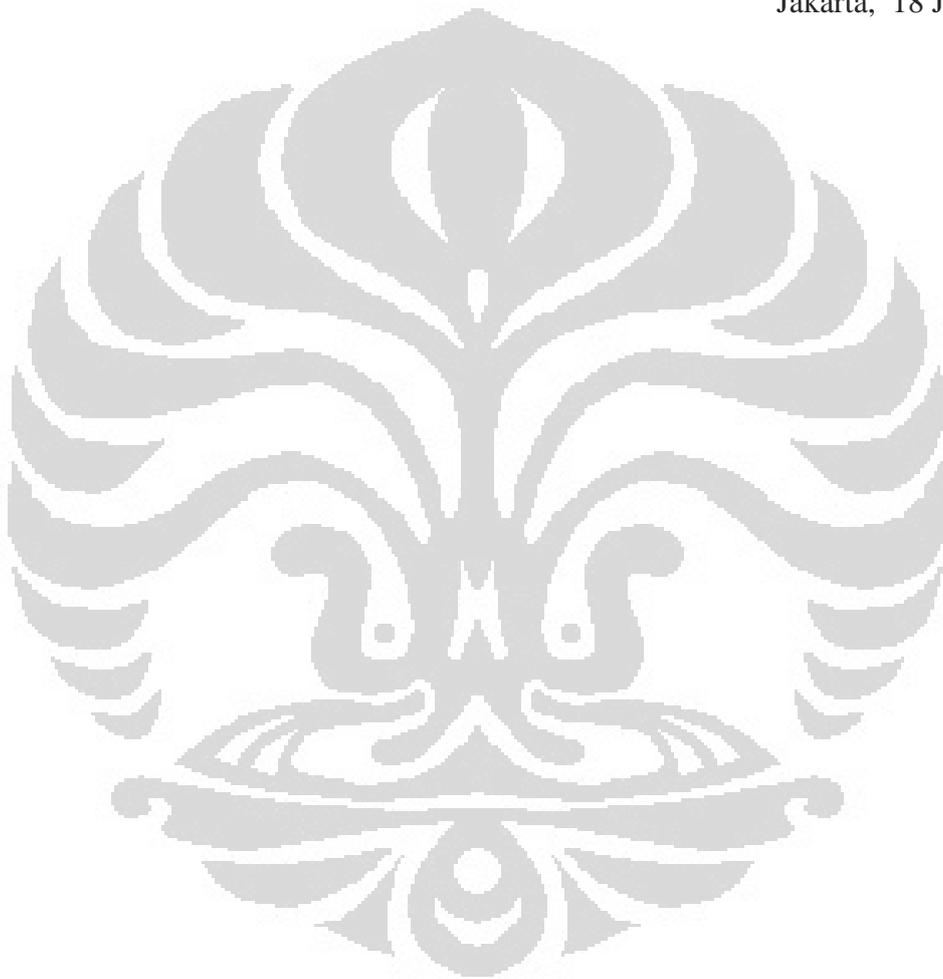
- (1) Dra. Conny Riana Tjampakasari, MS, DMM yang telah meluangkan waktunya untuk mengarahkan dan membimbing penelitian ini. Tanpa bantuan beliau penelitian ini tentu tidak akan berlangsung dengan baik;
- (2) Dr. dr. Saptawati Bardosono, MS, SpGK sebagai Ketua Modul Riset FKUI yang telah memberikan izin untuk melaksanakan penelitian ini;
- (3) Departemen Mikrobiologi FKUI yang menyediakan sarana serta prasarana untuk mendukung jalannya penelitian ini;
- (4) Pak Syarif dan Pak Aan yang telah membantu kelancaran pengerjaan eksperimen di laboratorium;
- (5) Sesama rekan penelitian peneliti, Agatha Grace, Angela Marcellina, Marlene Irawan, Marshal Sumampouw, dan Naldo Sofian yang bersama peneliti mengerjakan penelitian kelompok sehingga menghasilkan lima penelitian serupa bersama penelitian ini;
- (6) Keluarga dan teman-teman sejawat yang telah mendukung baik dalam segi moril maupun material;

(7) Pihak-pihak lain yang tidak disebutkan yang juga mendukung terealisasinya penelitian ini.

Akhir kata, peneliti sadar bahwa penelitian ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, peneliti terbuka menerima kritik dan saran yang membangun. Semoga penelitian ini bermanfaat bagi penelitian selanjutnya.

Jakarta, 18 Juli 2011

Ricky



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ricky
NPM : 0806324394
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Departemen : Mikrobiologi
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-Exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Pengaruh Tingkat Frekuensi Suara dalam Batas Pendengaran Secara Berseling terhadap Viabilitas *Pseudomonas aeruginosa*”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai peneliti/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Jakarta

Pada tanggal: 18 Juli 2011

Yang menyatakan,



(Ricky)

ABSTRAK

Nama : Ricky
Fakultas : Kedokteran
Judul : Pengaruh Frekuensi Suara dalam Rentang Audiosonik Secara Berseling terhadap Viabilitas *Pseudomonas aeruginosa*

Penelitian ini membahas pengaruh sonikasi pada dua frekuensi gelombang suara audiosonik, yaitu 7 kHz dan 17kHz, terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dikultur dalam medium *Bovine Heart Infusion* (BHI) dan *Plate Count Agar* (PCA). Bakteri yang sudah terpapar gelombang suara dikultur dalam agar nutrisi dan diinkubasi selama 24 jam. Kemudian pertumbuhan koloni dihitung menggunakan *colony counter*. Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan koloni *P.aeruginosa* dipengaruhi gelombang suara pada frekuensi berbeda setelah dibandingkan dengan kontrol. Semakin tinggi frekuensi suara, semakin kuat efek inhibisi terhadap pertumbuhan, dengan efek inhibisi frekuensi 17 kHz sebesar 24,16% dan frekuensi 7 kHz sebesar 11,52%.

Kata kunci:

Pseudomonas aeruginosa; inhibisi; sonikator; audiosonik.

ABSTRACT

Name : Ricky
Faculty : Medicine
Title : The Effect of Intermittent Audiosonic Soundwaves on the Viability of *Pseudomonas aeruginosa*.

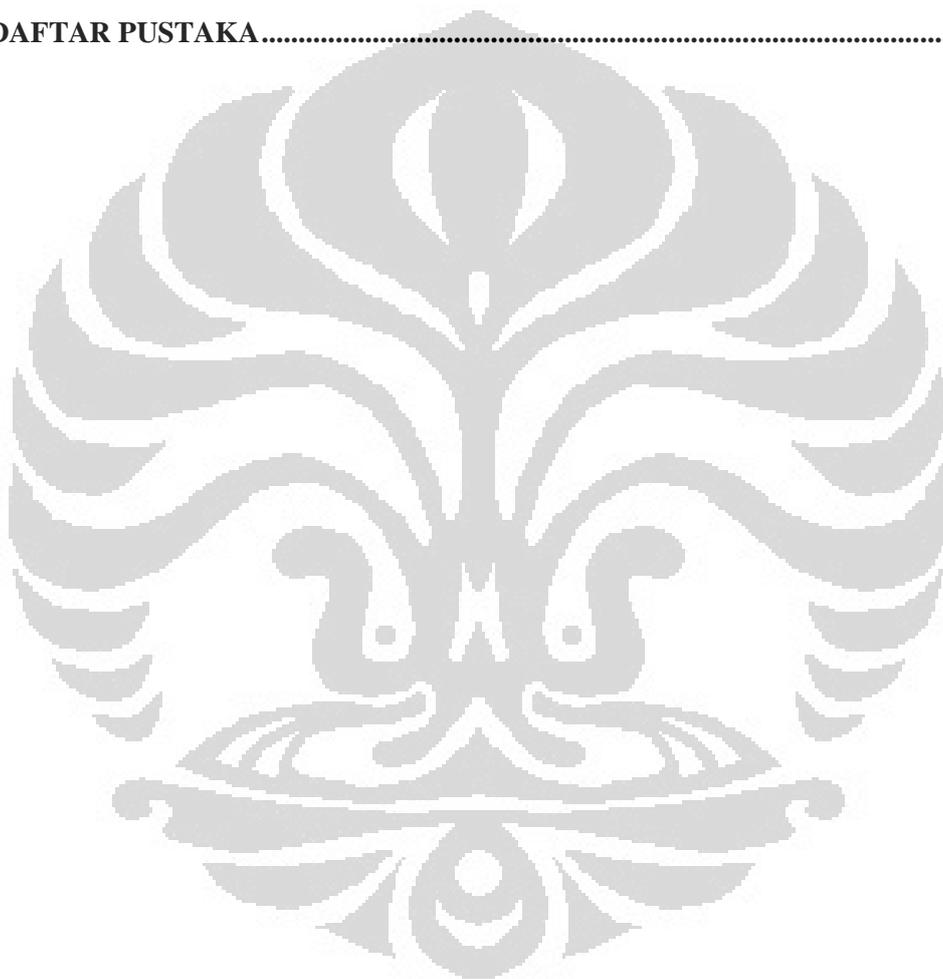
This research discusses the effect of sonication using two different frequencies, 7 and 17 kHz, on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* which was cultured in *Bovine Heart Infusion* (BHI) medium and *Plate Count Agar* (PCA). After exposure, bacteria was recultured in nutrient agar and incubated for 24 hours. Then the growth of bacteria colonies was measured using colony counter. The result showed that different sound frequencies have effects on the growth of *P.aeruginosa*. Higher sound frequency at 17 kHz had stronger growth inhibition by 24.16% as compared to control group, while sound frequency at 7 kHz only showed 11.52% growth inhibition.

Keywords:
Pseudomonas aeruginosa; inhibition; sonicator; audiosonic.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vi
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Hipotesis	2
1.4. Tujuan	2
1.4.1. Tujuan Umum	2
1.4.2. Tujuan Khusus	2
1.5. Manfaat	3
1.5.1. Bagi Peneliti.....	3
1.5.2. Bagi Perguruan Tinggi	3
1.5.3. Bagi Paramedis dan Pihak Terkait.....	3
1.5.4. Bagi Masyarakat	3
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Bakteri.....	4
2.1.1. Penjelasan Umum	4
2.1.2. Struktur dan Komponen Bakteri	4
2.1.3. Pseudomonad.....	7
2.1.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
2.1.5. Kondisi yang mempengaruhi viabilitas <i>P.aeruginosa</i>	9
2.1.6. Respon <i>P.aeruginosa</i> terhadap Stres	14
2.2. Transfer kultur	17
2.3. Sonikasi dan pengaruhnya terhadap bakteri.....	18
2.4. Pengenceran serial	20
2.5. Teknik <i>Pour Plate</i>	20
2.6. Pengukuran viabilitas bakteri.....	21
2.7. Kerangka Konsep.....	22
3. METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1. Desain Penelitian	23
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.3. Bahan, Alat Penelitian, dan Cara Kerja	23
3.3.1. Bahan Penelitian	23
3.3.2. Alat Penelitian.....	23
3.3.3. Cara Kerja.....	24
3.4. Identifikasi Variabel.....	30
3.5. Definisi Operasional	30
3.6. Alur Penelitian	31
3.7. Manajemen dan Analisis Data	31
3.8. Etika Penelitian	31

4. HASIL PENELITIAN	33
4.1. Karakteristik Bakteri <i>P.aeruginosa</i>	34
4.2. Hasil Penelitian	34
5. DISKUSI.....	35
5.1. Perbandingan Viabilitas <i>P.aeruginosa</i> antara Kontrol dengan Pemaparan Frekuensi Suara dalam Rentang Audiosonik Secara Berseling.....	35
5.2. Perbandingan Viabilitas <i>P.aeruginosa</i> pada Perbedaan Frekuensi Sonikasi	36
6. KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1. Kesimpulan	37
5.2. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Profil viabilitas <i>P.aeruginosa</i> dengan sumber karbon berbeda pada interval waktu berbeda ¹⁶	10
Gambar 2.2.	Profil viabilitas <i>P.aeruginosa</i> dengan sumber nitrogen berbeda pada interval waktu berbeda ¹⁶	11
Gambar 2.3.	Profil viabilitas <i>P.aeruginosa</i> dengan pH berbeda pada interval waktu berbeda ¹⁶	12
Gambar 2.4.	Profil viabilitas <i>P.aeruginosa</i> dengan suhu berbeda pada interval waktu berbeda ¹⁶	13
Gambar 2.5.	Pengaruh stres eksternal dan komposisi asam lemak terhadap struktur membran bakteri	15
Gambar 3.1.	Inkubator untuk menjaga suhu optimal bagi viabilitas koloni bakteri	24
Gambar 3.2.	Agar PCA dalam kolf. Setiap kolf berisi 500 ml agar PCA.....	26
Gambar 3.3.	Sonikasi dilakukan dalam wadah terendam es untuk mencegah peningkatan suhu selama proses sonikasi.....	28
Gambar 3.4.	Skema pengenceran dan perkembangbiakan bakteri.....	29
Gambar 4.1.	Hasil pewarnaan gram bakteri <i>P.aeruginosa</i>	32
Gambar 4.2.	Pertumbuhan <i>P.aeruginosa</i> di atas agar MacConkey.....	32

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Hasil Penghitungan Jumlah Koloni <i>P.aeruginosa</i> dengan Menggunakan <i>Colony Counter</i>	33
Tabel 4.2. Perbandingan Rerata Jumlah Koloni <i>P.aeruginosa</i> pada F1, F2, dan Kontrol	34



BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pseudomonas spp. merupakan komponen mikroba yang penting karena keberadaannya yang tersebar di banyak tempat. Kemampuan kelompok bakteri ini untuk hidup dengan baik di tanah dan air mempermudah kontak bakteri ini dengan manusia.¹ *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) adalah salah satu jenis spesies *Pseudomonas* yang bersifat patogen pada manusia, terutama sebagai penyebab infeksi pada pasien di rumah sakit, yang lemah daya tahan tubuhnya, dan penderita sistifibrosis.²

Pengobatan infeksi *P.aeruginosa* sulit dilakukan dengan pengobatan tunggal karena spesies ini mampu mengembangkan sifat resisten dalam waktu yang relatif cepat.³ Hingga saat ini, *P.aeruginosa* diketahui telah bersifat resisten terhadap obat jenis beta-lactam, seperti karbapenem, imipenem, dan meropenem.⁴

Untuk menemukan pengobatan yang memiliki sensitivitas tinggi terhadap *P.aeruginosa* dibutuhkan banyak penelitian menggunakan sampel kultur bakteri tersebut. Viabilitas bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, baik fisika maupun kimia, seperti suhu, derajat keasaman, konsentrasi garam dan mineral tertentu, obat, dan nutrisi.³ Tetapi, tidak hanya terbatas pada lingkup yang sempit ini, viabilitas bakteri ternyata juga dipengaruhi oleh gelombang suara. Walaupun demikian, tidak semua bakteri memberikan respon yang sama terhadap perlakuan gelombang suara, beberapa di antaranya mengalami lisis dan terhambat viabilitasnya, sedangkan yang lain mengalami stimulasi viabilitas.^{5,6}

Karena permasalahan di atas, peneliti ingin mengetahui apakah gelombang suara dapat mempengaruhi viabilitas *P.aeruginosa*. Selain itu, peneliti juga ingin mengetahui pengaruh frekuensi gelombang suara yang diberikan terhadap viabilitas *P.aeruginosa*.

Untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan tersebut, diadakan eksperimen yang memeriksa hubungan gelombang suara pada dua frekuensi dan viabilitas bakteri. Hasil penelitian diharapkan bermanfaat dalam maraknya pencarian pengobatan yang tepat bagi infeksi bakteri *P.aeruginosa* yang dengan cepat

bersifat resisten terhadap banyak jenis antibiotik. Apabila ternyata pemberian gelombang suara dapat mempercepat pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa*, diharapkan hal tersebut juga dapat dimanfaatkan dalam metode kultur secara cepat dan efisiensi biaya, sehingga dapat diadakan lebih banyak penelitian dengan biaya yang lebih murah untuk menemukan terapi terbaik bagi infeksi *P.aeruginosa*.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh frekuensi suara dalam rentang audiosonik secara berseling terhadap viabilitas *P.aeruginosa*?
2. Bagaimana perbandingan viabilitas *P.aeruginosa* setelah pemaparan gelombang audiosonik pada frekuensi 7 kHz dan 17 kHz?

1.3. Hipotesis

1. Pemaparan frekuensi suara dalam rentang audiosonik secara berseling mengurangi viabilitas *P.aeruginosa*.
2. Viabilitas *P.aeruginosa* setelah pemaparan audiosonik pada frekuensi 17 kHz lebih rendah daripada viabilitas *P.aeruginosa* setelah pemaparan audiosonik pada frekuensi 7 kHz.

1.4. Tujuan

1.4.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh frekuensi suara dalam rentang audiosonik secara berseling terhadap viabilitas bakteri *P.aeruginosa*.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Diketuainya karakteristik bakteri *P.aeruginosa* yang digunakan dalam penelitian.
2. Diketuainya pengaruh pemberian frekuensi 7 kHz terhadap viabilitas *P.aeruginosa*.
3. Diketuainya pengaruh pemberian frekuensi 17 kHz terhadap viabilitas *P.aeruginosa*.

1.5. Manfaat

1.5.1. Bagi Peneliti

1. Sebagai sarana pelatihan dan pembelajaran dalam melakukan penelitian eksperimental.
2. Memperdalam pengetahuan dan kemampuan dalam bidang mikrobiologi kedokteran, terutama mengenai kultur bakteri.
3. Melatih kepekaan dalam mengidentifikasi masalah-masalah kesehatan di masyarakat.
4. Mengaplikasikan ilmu pengetahuan dan keterampilan laboratorium yang telah didapat selama mengikuti program pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI).

1.5.2. Bagi Perguruan Tinggi

1. Mengamalkan Tri Dharma Perguruan Tinggi dalam melaksanakan fungsi perguruan tinggi sebagai lembaga penyelenggara pendidikan, penelitian, dan pengabdian masyarakat.
2. Turut berperan serta dalam mewujudkan visi FKUI 2010 sebagai universitas riset terkemuka di Asia Pasifik
3. Mewujudkan salah satu Misi FKUI yakni meningkatkan atmosfer riset yang berkesinambungan.
4. Sarana menjalin kerja sama dan komunikasi antara mahasiswa dan staf pengajar FKUI.

1.5.3. Bagi Paramedis dan Pihak Terkait

1. Memberikan wawasan baru dalam upaya kultur bakteri.
2. Sebagai dasar bagi penelitian-penelitian lanjutan mengenai pemanfaatan frekuensi suara untuk kultur bakteri.

1.5.4. Bagi Masyarakat

1. Meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai bakteri.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri

2.1.1. Penjelasan Umum

Bakteri adalah satu dari lima kelompok besar organisme yang menyebabkan penyakit infeksius pada manusia.⁷ Bakteri memiliki tiga bentuk dasar, yaitu kokus, batang, dan spiral.^{3,8} Bakteri digolongkan ke dalam *kingdom* prokariotik, dengan karakteristik diameter yang kecil, $0,3-5 \mu\text{m}$ ⁸, dan tidak adanya membran inti.³ Ketiadaan membran inti menyebabkan DNA bakteri yang berbentuk sirkuler membentuk lipatan-lipatan menjadi sebuah nukleoid serta menyebabkan bakteri tidak memiliki organel mitotik seperti pada sel eukariotik.^{3,7,8} Membran sitoplasma bakteri memiliki sejumlah protein, seperti permease, enzim sintesis dinding sel, protein sensorik, protein sekretorik, dan pada bakteri aerobik, enzim rantai pernafasan. Membran tersebut dikelilingi oleh dinding sel, yang terutama dibentuk oleh kerangka penyokong murein.⁸ Berdasarkan dinding selnya, bakteri digolongkan ke dalam dua kelompok, yaitu bakteri gram negatif dan positif.³ Perbedaan utama dari kedua jenis bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif memiliki struktur lipopolisakarida yang berperan dalam proses patogenesis infeksi, sedangkan bakteri gram positif memiliki lapisan murein yang lebih tebal dan mengandung asam teikoat. Sejumlah bakteri memiliki kapsul polisakarida yang melindunginya dari fagositosis, flagela untuk bergerak, serta fimbria atau pili untuk melekatkan dirinya ke sel target.⁸

2.1.2. Struktur dan Komponen Bakteri

2.1.2.1. Dinding Sel

Dinding sel merupakan komponen terluar sebagian besar bakteri, kecuali *Mycoplasma* yang hanya memiliki membran sel.³ Dinding sel berfungsi mempertahankan interior sel dari gangguan eksternal, mempertahankan gradien osmotik interior sel dengan lingkungan ekstraselular, mempertahankan integritas bentuk sel, serta memfasilitasi komunikasi sel dengan lingkungannya.⁸ Struktur,

komposisi kimiawi, dan ketebalan dinding sel berbeda antara bakteri gram positif dan negatif.⁷

Elemen struktural dinding sel yang paling penting adalah murein, atau peptidoglikan, yaitu material polimer menyerupai jaring yang melingkupi keseluruhan sel. Lapisan ini dibentuk oleh rantai polisakarida yang berikatan silang dengan peptida.⁸

Bakteri gram positif memiliki peptidoglikan yang lebih tebal, sampai dengan 40 lapisan dan merupakan 30% massa kering dinding sel⁸, dengan asam teikoat di dalamnya.³ Asam teikoat diduga meregulasi aktivitas substansi autolisin yang mengatur pertumbuhan dan pembelahan sel.⁸

Di pihak lain, bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis, hanya 10% massa kering dinding sel dengan ketebalan 2nm. Walaupun demikian, peptidoglikan bakteri gram negatif diselubungi protein yang menyusun 50% massa kering dinding sel dan dilengkapi lipopolisakarida yang berperan penting secara medis⁸ karena sifatnya yang patogenik terhadap manusia.³

2.1.2.2. Membran Sel

Membran bakteri membentuk lapisan pelindung di sekeliling sel dengan lapisan ganda fosfolipid sebagai kerangka struktural. Fosfolipid terdiri atas molekul tunggal gliserol, di mana satu kelompok OH terikat dengan sebuah kelompok fosfat sebagai kutub hidrofilik dan dua rantai asam lemak sebagai kutub hidrofobik. *Pseudomonas* memiliki fosfolipid yang relatif sederhana, dengan komposisi utama sebagai berikut: fosfatidiletanolamin (PE) 69%, fosfatidilgliserol (PG) 15%, dan kardioplin (CL) 11%.

Bakteri gram negatif memiliki struktur khusus, yaitu membran luar, yang berbeda dari membran biologis manapun. Membran ini tersusun oleh dua lapisan, lapisan dalam menyerupai membran sel biasa, sedangkan lapisan luar mengandung komponen lipopolisakarida.³

Membran ini asimetrik, dengan lapisan luar terutama dibentuk oleh lipopolisakarida dan lapisan dalam oleh fosfolipid. Sejumlah protein, seperti porin, juga terintegrasi dengan membran luar. Protein tersebut memiliki fungsi antara lain mengenali dan memindahkan molekul eksternal, memfasilitasi perpindahan molekul hidrofilik, dan mekanisme efluk substansi antimikrobia.¹

Protein-protein lain yang juga penting adalah permease, enzim untuk sintesis dinding sel, protein transfer untuk sekresi protein ekstraselular, protein persinyalan, dan enzim-enzim pernafasan.^{3,7,8}

Kemampuan lapisan luar membran untuk mengeksklusi molekul hidrofobik tidak dimiliki membran biologis manapun dan berfungsi untuk mempertahankan sel dari substansi yang berbahaya, seperti garam empedu. Karena struktur dasarnya tersusun atas lemak, membran ini juga mengeksklusikan molekul hidrofobik. Namun, membran ini memiliki kanal-kanal khusus berupa molekul protein, disebut porin, yang memfasilitasi difusi pasif gula, asam amino, dan ion-ion tertentu. Molekul antibiotik yang besar sulit menembus membran luar ini, sehingga bakteri gram negatif cenderung memiliki resistensi tinggi terhadap antibiotik.³

Lipopolisakarida, disebut juga endotoksin pada dinding sel bakteri gram negatif, disusun oleh lipoid A, kerangka utama polisakarida, dan rantai polisakarida spesifik O. Lipoid A berperan dalam efek toksik. Sebagai substansi bebas, atau dalam kompleks lipopolisakarida, lipoid A menstimulasi pembentukan dan sekresi sitokin yang menentukan manifestasi gejala endotoksin. Dilepaskannya endotoksin dalam jumlah besar dapat menyebabkan syok sepsis. Rantai polisakarida O, disebut juga antigen, merupakan struktur kimiawi yang digunakan untuk membedakan varian dan jenis-jenis bakteri.⁸

2.1.2.3. Ribosom

Ribosom adalah organel sel yang melakukan sintesis protein. Ribosom bakteri berukuran 70S dengan subunit 50S dan 30S.³ Ribosom mengandung *ribosomal ribonucleic acid* (rRNA) dan protein. Ribosom menerjemahkan pesan yang dibawa *messenger RNA* (mRNA) ke dalam struktur protein primer melalui *aminoacyl-transfer RNA* (tRNA). tRNA kemudian akan membawa asam-asam amino untuk membangun protein.⁷

2.1.2.4. Nukleoid

Nukleus selular prokariotik merupakan lilitan *double-stranded DNA*, tidak diselubungi membran, dan terlokalisasi dalam sitoplasma.⁸ Struktur ini dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya.⁷ Pada kebanyakan bakteri,

nukleoid berwujud sebuah molekul bundar tunggal. Plasmid adalah struktur genetic non-esensial berupa molekul DNA sirkuler terpuntir yang 100-1000 kali lebih kecil dari nukleoid dan bereproduksi secara otonom.⁸

2.1.2.5. Transposon

Transposon merupakan komponen dari DNA yang dapat berpindah dari lokus ke lokus lain, baik di dalam maupun antar DNA bakteri, plasmid, dan bakteriofag. Biasanya transposon mengkode enzim resisten obat, toksin, enzim metabolik, atau dapat menyebabkan mutasi gen yang diinsersi serta mengubah ekspresi gen sekitarnya. Transposon biasanya memiliki empat domain utama, yaitu sekuens DNA yang bercerminan di kedua ujungnya, enzim transposase, gen repressor, dan gen produk.⁷

2.1.3. Pseudomonad

Pseudomonad adalah mikroorganisme yang tersebar luas di alam, berhubungan erat dengan hewan dan tumbuh-tumbuhan. Distribusinya yang luas mencerminkan kemampuan adaptasi genetik dan fisiologisnya yang baik.⁹ Genus Pseudomonad merupakan kelompok bakteri batang, gram negatif, tidak membentuk spora⁹, dan aerobik obligat⁸, meskipun beberapa jenis melakukan respirasi anaerobik dengan nitrat sebagai sumber energi.^{9,10} Genus ini juga memberikan hasil tes katalase positif, yang berarti memetabolisme gula secara oksidatif dan tidak melakukan fermentasi maupun fotosintesis, sehingga dibutuhkan oksigen sebagai akseptor elektron terminal untuk melakukan kultur organisme ini.^{3,9} Spesies yang signifikan dalam bidang medis adalah *P.aeruginosa*. *P.aeruginosa* adalah pathogen oportunistis yang terutama menginfeksi pasien dengan sistem imunitas yang lemah, seperti penderita sistik fibrosis, kolonisasi di luka bakar, endokarditis pada pengguna obat-obatan terlarang⁸, infeksi luka pascaoperasi¹¹, infeksi traktus perkemihan¹², sepsis, dan infeksi nosokomial.¹³ Patogenesis infeksi *Pseudomonas* sangat kompleks, dimulai dari perlekatan pili ke sel target, dan berperannya banyak faktor-faktor virulensi seperti eksotoksin A, eksoenzim S, sitotoksin, sejumlah protease metal, dan dua jenis fosfolipase C. Lipopolisakarida di membran bagian luar bakteri juga sangat berperan dalam patogenesis.

2.1.4. *Pseudomonas aeruginosa*

P.aeruginosa adalah bakteri gram negatif, aerobik obligat, berbentuk batang bulat dengan panjang 2-4 μm serta dilengkapi setidaknya satu flagela polar.^{3,8} *Pseudomonas* disebut sebagai bakteri non-fermenter, karena tidak memfermentasikan glukosa, melainkan mengoksidasinya melalui proses transport elektron dengan enzim sitokrom.³ Beberapa strain, terutama yang menginfeksi pasien sistik fibrosis⁸, dapat menghasilkan lapisan biofilm, yaitu lendir glikokaliks ekstraselular yang kental, untuk melindungi organisme tersebut dari sistem imunitas tubuh.^{8,9} Organisme ini memberikan hasil tes indofenol oksidase positif, L-lysine dekarboksilase negatif, dan L-ornithine dekarboksilase negatif.¹⁴

P.aeruginosa memiliki membran luar yang terintegrasi dengan dinding selnya. Arsitektur membran tersebut berperan dalam resistensi *Pseudomonas* terhadap banyak antibiotik.⁸ Selain itu, *Pseudomonas* juga mampu mempertahankan diri dari disinfektan, sehingga sering ditemukan di sabun, antiseptik, dan detergen yang mengandung heksaklorofen. Oleh karena faktor-faktor tersebut, sekitar 0,4 persen dari pasien-pasien yang dirawat di rumah sakit di Amerika terjangkit infeksi nosokomial bakteri ini.³

Pseudomonas menghasilkan dua pigmen yang penting untuk diagnosis klinik dan laboratorium, yaitu piosianin yang menimbulkan warna kebiruan pada pus dan pioverdin yang menimbulkan warna kuning-kehijauan dan berfluoresensi di bawah sinar ultraviolet.³ Pioverdin adalah salah satu siderofor, transporter logam yang menyediakan zat besi bagi bakteri, yang penting bagi fungsi enzim sitokrom dalam mengoksidasi glukosa sebagai sumber energi utama *Pseudomonas*.¹⁵ Pada kultur laboratorium, kedua pigmen tersebut berdifusi ke agar dan menimbulkan warna biru kehijauan yang mudah diidentifikasi. Dari famili Pseudomonad, hanya *Pseudomonas aeruginosa* yang mensintesis piosianin.³

P.aeruginosa tumbuh sebagai koloni yang tidak berwarna di atas agar kultur MacConkey atau EMB, bersifat oksidase positif. Pada agar kultur TSI, tampak warna metalik tipikal, disertai dengan pigmen hijau-biru pada agar nutrisi biasa serta aroma buah, cukup untuk menegakkan diagnosis presumtif. Diagnosis dikonfirmasi dengan reaksi biokimiawi.⁷

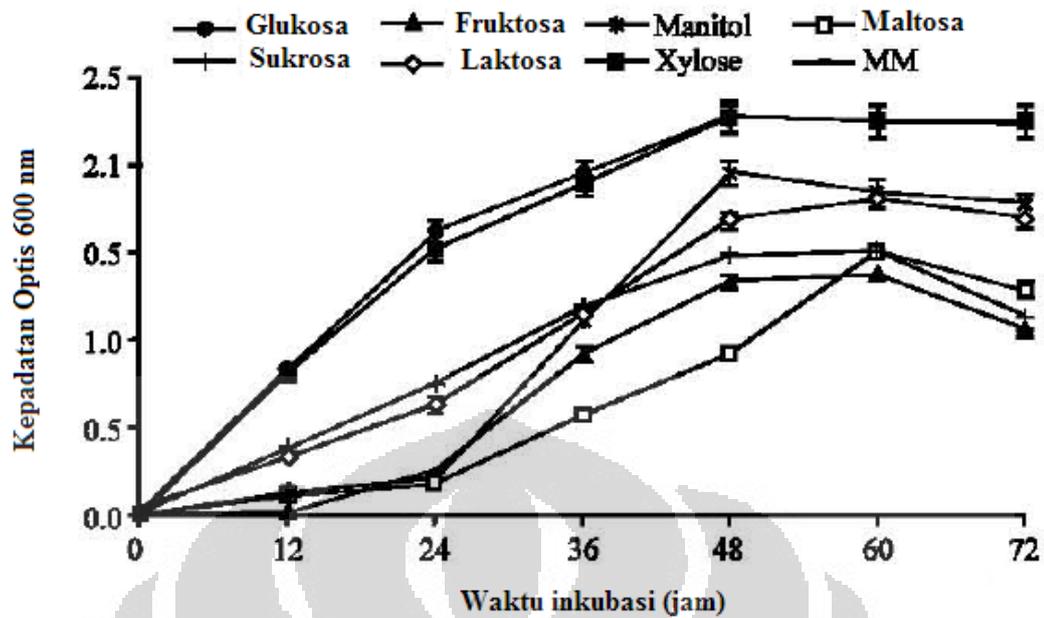
Pada keadaan tertentu, kultur bakteri ini dapat dikenali dengan aroma manis menyerupai anggur atau jagung (*corn taco like odor*). Beberapa galur tertentu bakteri *Pseudomonas* juga dapat menghemolisis darah. Kultur in vitro *P.aeruginosa* umumnya membentuk koloni berbentuk bulat dengan warna fluoresen kehijauan seiring dengan perkembangannya. Kadang biakan *P.aeruginosa* menghasilkan beberapa kelompok koloni yang mungkin merupakan koloni-koloni galur *P.aeruginosa* yang berbeda atau varian dari galur yang sama. Umumnya, setiap koloni mempunyai perbedaan aktivitas biokimia dan enzimatik yang juga mempengaruhi kepekaan terhadap antimikroba.³

2.1.5. Kondisi yang mempengaruhi viabilitas *P.aeruginosa*

Agar dapat tumbuh dengan baik, bakteri membutuhkan semua substansi organik dan inorganik, baik sebagai sumber energi maupun sebagai katalis reaksi. Substansi organik yang umumnya dibutuhkan antara lain karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen, fosfor, dan sulfur. Sedangkan ion-ion inorganik yang dibutuhkan antara lain kalium, natrium, besi, magnesium, kalsium, dan klorida.⁷

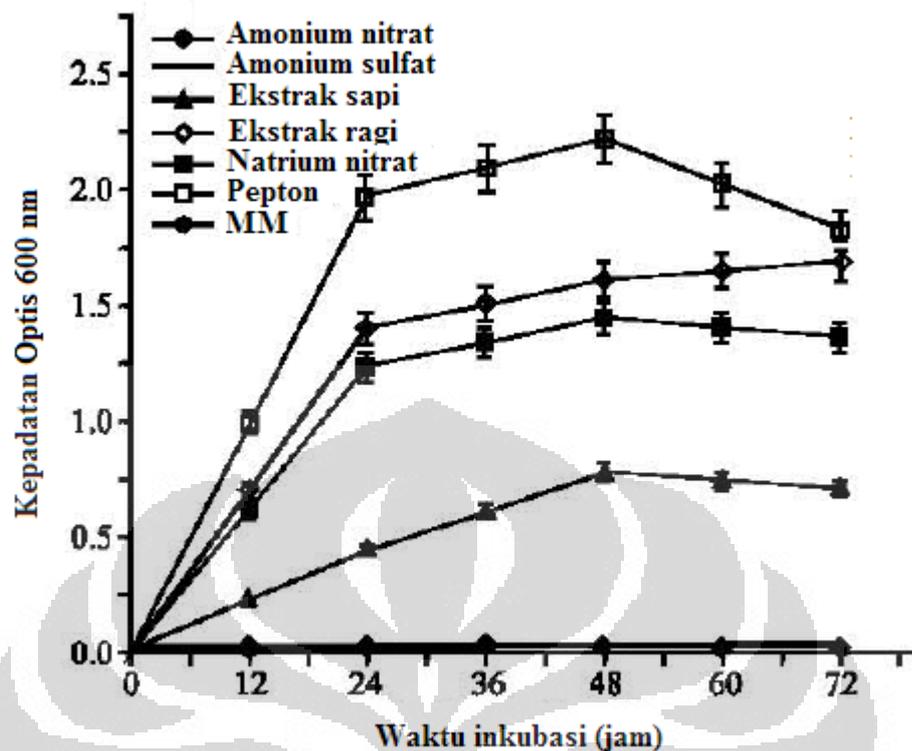
Umumnya, bakteri memiliki tiga mekanisme utama dalam pemanfaatan energi, yaitu fermentasi, respirasi, dan fotosintesis. Setidaknya satu dari ketiga mekanisme tersebut harus dimiliki agar organisme dapat bertahan hidup.⁷ Sebagai bakteri aerobik obligat non-fermentasi^{3,7}, *P.aeruginosa* hanya menggunakan mekanisme respirasi, yaitu proses reduksi kimiawi oksidan (akseptor elektron) melalui serangkaian *carrier* elektron di membran. Reduktan, yang merupakan donor elektron, dapat berupa unsur organik atau inorganik.³

Charyulu (2010) menyebutkan glukosa dan xylose adalah sumber karbon yang mendukung pertumbuhan optimal *P.aeruginosa* dengan berkurangnya *lag phase*¹⁶, di mana terjadi aktivitas metabolisme yang tinggi tanpa adanya pembelahan sel⁷, dan memanjangnya *log phase*¹⁶, di mana pembelahan sel terjadi. Fase stasioner, di mana nutrisi habis dipakai atau produk toksik menghambat pertumbuhan lebih lanjut⁷, terjadi setelah inkubasi 60 jam.¹⁶



Gambar 2.1. Profil viabilitas *P.aeruginosa* dengan sumber karbon berbeda pada interval waktu berbeda¹⁶

Pada penelitian yang sama, Charyulu juga menemukan bahwa penyediaan nitrogen dalam bentuk organik, seperti pepton, mendukung pertumbuhan maksimal *P.aeruginosa* dibandingkan sumber nitrogen lain seperti ekstrak ragi dan sapi. Walaupun demikian, penggunaan ekstrak sapi sebagai sumber nitrogen memicu metabolisme *P.aeruginosa* hingga 60 jam pertama inkubasi.¹⁶

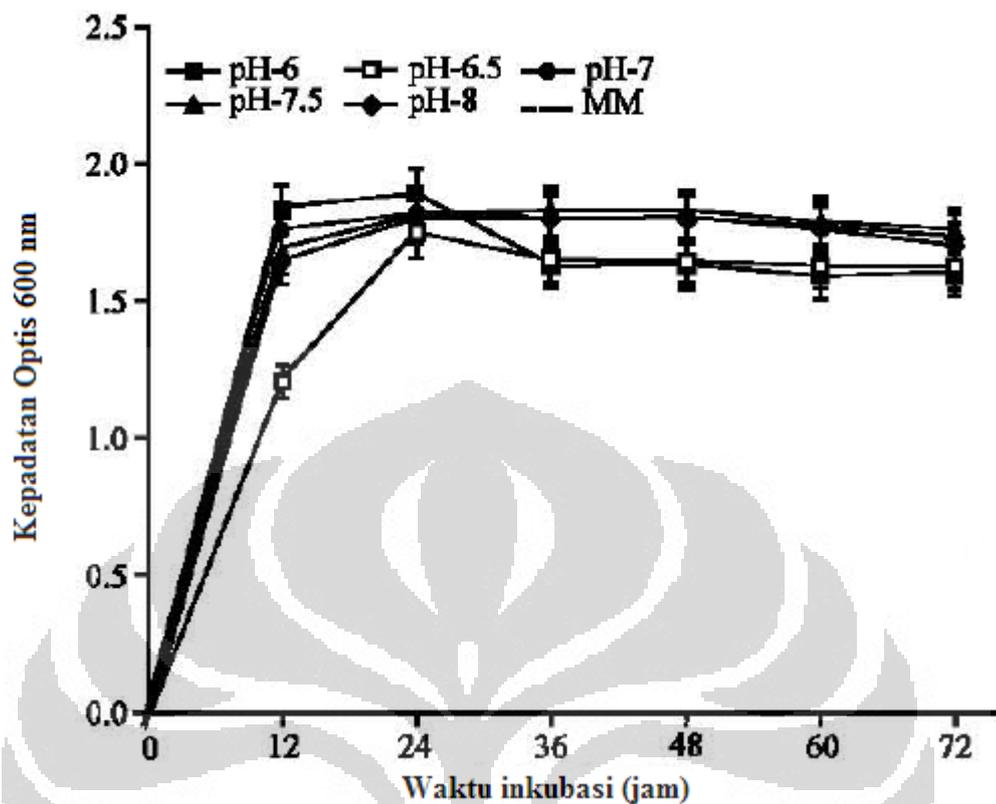


Gambar 2.2. Profil viabilitas *P.aeruginosa* dengan sumber nitrogen berbeda pada interval waktu berbeda¹⁶

Selain memiliki semua nutrisi yang dibutuhkan, media kultur juga harus memiliki tingkat pH, suhu, aerasi, dan faktor-faktor lingkungan lain yang sesuai.³

2.1.5.1. pH

Kebanyakan organisme memiliki toleransi pH yang sempit. Oleh karena itu, pH optimal harus ditentukan untuk setiap spesies. Sebagian besar organisme bersifat neutrofil, yaitu tumbuh optimal di pH 6,0-8,0, sebagian organisme lain bersifat asidofil dengan pH pertumbuhan optimal 3,0, dan alkalofil, dengan pH pertumbuhan optimal hingga 10,5.³ *P.aeruginosa* termasuk organisme neutrofil karena tumbuh optimal di pH 7,0-7,5¹⁶

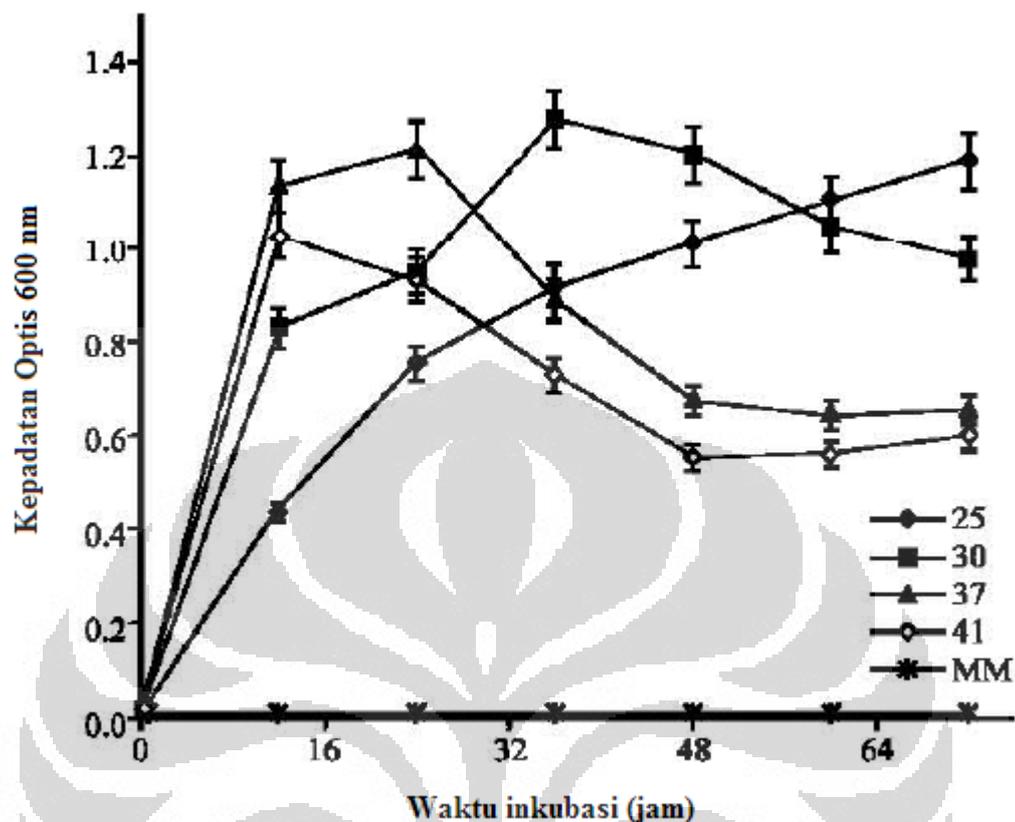


Gambar 2.3. Profil viabilitas *P.aeruginosa* dengan pH berbeda pada interval waktu berbeda¹⁶

2.1.5.2. Suhu

Spesies-spesies mikroba memiliki keanekaragaman toleransi suhu optimal yang luas. Organisme psikrofilik tumbuh optimal pada suhu rendah yang berkisar antara 15-20 °C, organisme mesofilik tumbuh optimal pada suhu sedang, yaitu antara 30-37 °C, dan sisanya merupakan organisme termofilik yang tumbuh pada suhu 50-60 °C. Beberapa organisme bahkan bersifat hipertermofilik dan mampu tumbuh di air yang mendidih. Organisme-organisme pathogen pada manusia dan hewan-hewan homiotermik biasanya bersifat mesofilik karena kesesuaiannya dengan suhu lingkungan.³ *P.aeruginosa* sendiri tumbuh optimal pada suhu 30-37.

14,16



Gambar 2.4. Profil viabilitas *P.aeruginosa* dengan suhu berbeda pada interval waktu berbeda¹⁶

2.1.5.3. Aerasi

Bakteri dikelompokkan berdasarkan respon masing-masing organisme terhadap komposisi gas. Organisme aerobik obligat hanya membutuhkan oksigen sebagai akseptor hidrogen, organisme aerobik fakultatif dapat hidup secara aerobik dan anaerobik, sedangkan organisme yang membutuhkan substansi selain oksigen sebagai akseptor hidrogen serta sensitive terhadap inhibisi oksigen disebut anaerob obligat.³

Penyediaan oksigen bagi kultur aerob merupakan masalah teknis yang sering ditemui. Umumnya wadah kultur digoncang untuk mempertemukan oksigen dengan medium atau udara dipompakan dengan tekanan ke dalam medium. Difusi oksigen sering menjadi faktor pembatas pertumbuhan bakteri aerob karena saat konsentrasi sel mencapai $4-5 \times 10^9$ /mL tercapai, kecepatan difusi oksigen menuju sel tidak lagi cukup untuk pertumbuhan lebih lanjut. Di lain

pihak, kultur anaerobik obligat bermasalah dengan isolasi kultur dari oksigen. Masalah tersebut dapat diatasi dengan menggunakan agen pereduksi seperti sodium tioglikolat, menutup agar kultur dengan lilin, atau dengan meletakkan kultur dalam wadah anaerob.³

2.1.5.4. Media Kultur

Untuk mempelajari suatu organisme spesifik, dibutuhkan kultur pertumbuhan yang bebas dari kontaminasi organisme lain. Agar tujuan tersebut tercapai, sel tunggal harus diisolasi dari sel-sel lain dan dikultur sedemikian rupa sehingga keturunannya tetap terisolasi dalam kultur. Metode yang dapat dilakukan adalah *plating* dan *dilution*.³

Metode *plating* menggunakan media gel di wadah cawan petri. Tidak seperti sel dalam media cair, sel dalam media gel mengalami imobilisasi, sehingga masing-masing sel yang ditempatkan di medium bertumbuh menjadi koloni terisolasi. Agen gel ideal adalah agar, polisakarida yang diekstraksi dari alga merah. Suspensi 1,5-2% terhadap air akan terlarut sempurna di suhu 100 °C, membentuk larutan jernih yang memadat di suhu 45 °C. Oleh karena itu, larutan agar steril dapat didinginkan hingga suhu 50 °C sebelum ditambahkan dengan bakteri, lalu segera didinginkan di bawah 45 °C untuk membentuk gel. Setelah agar membentuk gel, agar tidak akan mencair lagi kecuali dipanaskan di atas 80 °C, sehingga suhu inkubasi dapat diatur sesuai dengan kebutuhan bakteri spesifik.³

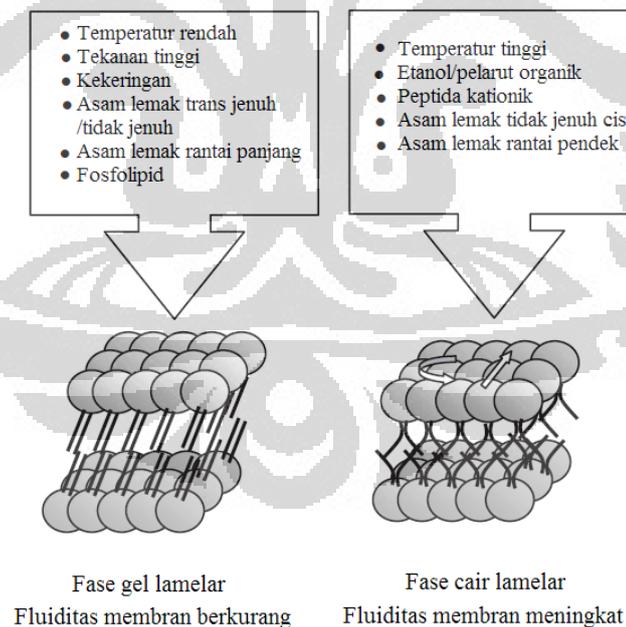
2.1.6. Respon *P.aeruginosa* terhadap Stres

Bakteri terpajan berbagai macam stres fluktuatif dari lingkungan, antara lain suhu ekstrim, tekanan osmotik, keberadaan substansi toksik, kelembaban, dan nutrisi. Untuk menjamin kelangsungan hidupnya, bakteri membutuhkan respon adaptif yang cepat. Mikroorganisme yang tersebar luas di alam seperti *Pseudomonas* mampu mengatur ekspresi gennya sebagai respon terhadap stresor lingkungan untuk melakukan adaptasi fisiologis dan biokimia.¹

Bagian bakteri yang pertama kali menghadapi stres adalah membran. Membran bakteri berperan sebagai pembatas antara lingkungan eksternal dan internal, sehingga cepat mengalami perubahan biokimia seperti struktur dan fluiditasnya. Membran berperan dalam sejumlah proses fisiologis, seperti regulasi

substansi ke dalam dan ke luar sel, stabilisasi protein struktural, dan penyediaan matriks untuk reaksi biologis, dengan tujuan mempertahankan kehidupan di tengah lingkungan yang terus berubah.¹

Perubahan keadaan eksternal langsung mempengaruhi ciri struktural dan fluiditas membran, sebagaimana telah disebutkan pada poin 2.1.2.2, dengan memodifikasi sifat biokimiawi komponen acyl membran lemak. Fosfolipid dapat membentuk fase-fase berbeda, seperti fase likuid dan fase gel. Transisi antar fase terjadi berdasarkan kondisi lingkungan. Pada suhu fisiologis, membran fungsional berada dalam fase *fluid-crystalline lamellar*, di mana asam-asam lemak dengan rantai karbon sepanjang 12-24 atom menyeimbangkan fluiditas membran. Namun, kondisi fisik membran dapat berubah jika dihadapkan dengan stresor biologis, kimiawi, atau fisik, dengan mengubah susunan lemak di membran, fase transisi, rasio lapisan lemak bilayer dan non-bilayer, serta mengubah rasio interaksi membran-protein.¹ Faktor-faktor yang mempengaruhi fluiditas membran digambarkan pada Gambar 5 di bawah.



Gambar 2.5. Pengaruh stres eksternal dan komposisi asam lemak terhadap struktur membran bakteri

2.1.6.1. Pengaruh Faktor Fisik Terhadap Membran

Stresor fisik yang umumnya dijumpai bakteri di lingkungan adalah suhu ekstrim, tekanan osmotik, dan fluktuasi kelembaban. Peningkatan temperature akan meluluhkan rantai asil, sehingga terjadi transisi menuju fase likuid, sedangkan suhu rendah menyebabkan transisi menuju fase gel. Mencairnya rantai asil menyebabkan susunan rantai asam lemak menjadi tidak beraturan tidak lagi berlapis-lapis, sehingga terjadi peningkatan fluiditas membran. Peningkatan tekanan menyebabkan membran lemak tersusun lebih padat, mengubahnya ke dalam fase gel. Penurunan kelembaban akan menurunkan suhu ambang mencairnya membran sel dengan memadatkan rantai-rantai asil fosfolipid, sehingga, sama dengan peningkatan tekanan, penurunan kelembaban menyebabkan membran bertransisi ke bentuk gel.¹

2.1.6.2. Pengaruh Faktor Kimiawi Terhadap Membran

Membran memberikan respon berbeda terhadap substansi kimiawi beracun berdasarkan sifat kelarutan dan strukturnya. Solven organik seperti toluen, xylen, dan sikloheksan terikat dengan sel dan mengganggu struktur serta fungsi membran. Organisasi gliserofosfolipid dalam membran dapat diganggu oleh akumulasi substansi hidrofobik. Hal tersebut akan menghambat interaksi dipol-dipol dan ikatan hidrogen rantai-rantai acyl di lapisan lemak ganda. Selain itu, molekul amfipatik mengubah volume lapisan bilayer dengan berinsersi di antara rantai-rantai asil lemak.¹

2.1.6.3. Pengaruh Faktor Biologis Terhadap Membran

Karena interaksinya dengan banyak organisme, *Pseudomonas* secara konstan dikonfrontasi oleh komponen biologis yang berpengaruh terhadap membrannya. Banyak hewan dan tanaman memiliki peptida-peptida yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap mikroba. Kebanyakan peptida tersebut berinteraksi dengan fosfolipid dan lipoid A membran bakteri.¹

2.1.6.4. Pengaruh Keadaan Fisiologis Sel Terhadap Membran

Tidak hanya faktor eksternal yang berpengaruh terhadap integritas membran, tetapi juga faktor internal, seperti fase pertumbuhan dan status nutrisi. Fase stasioner dan kehabisan nutrisi meningkatkan rasio lipid terhadap protein dengan peningkatan interaksi antara protein dan lemak. Perubahan tersebut mengubah lapisan lemak bilayer menjadi lebih rigid.¹

2.2. Transfer kultur

Bakteri dipindahkan dari satu medium ke medium lainnya dengan teknik subkultur. Teknik ini merupakan dasar yang penting dan sering digunakan dalam prosedur perkembangbiakan bakteri. Proses ini dilakukan secara hati-hati dan teliti karena mikroorganisme yang ada di ruangan maupun alat-alat kerja dapat menjadi sumber kontaminasi eksternal dan dapat mempengaruhi hasil penelitian.¹⁷

Tahap-tahapan yang harus diperhatikan saat transfer kultur antara lain:

1. Pengambilan bakteri dari media agar dilakukan dengan menggunakan sengkeli. Sebelumnya, tabung yang akan dibiakkan ditandai terlebih dahulu dengan nama bakteri dan tanda lain yang diperlukan.
2. Tabung kemudian digenggam dengan menggunakan telapak tangan.
3. Untuk mencegah kontaminasi, sengkeli dipanasi hingga seluruh kawat berwarna merah.
4. Dengan sengkeli yang sudah steril, kapas pada tabung dibuka.
5. Lalu, leher tabung dipanasi dengan cara melewatkan tabung di atas bunsen dengan cepat dan cukup sekali.
6. Sengkeli segera dimasukkan ke dalam tabung, lalu kembali dikeluarkan dengan membentuk gaya zigzag. Dengan demikian, bakteri pada sengkeli akan tertinggal dalam tabung.
7. Leher tabung kembali dipanasi di atas bunsen dan segera ditutup dengan kapas.
8. Sengkeli tidak lupa untuk kembali dipanaskan.
9. Selanjutnya, tabung-tabung tersebut diinkubasi pada inkubator 35°C selama 18-24 jam.

2.3. Sonikasi dan pengaruhnya terhadap bakteri

Sonikasi adalah metode yang digunakan untuk melisis sel. Lisis sel berarti rusaknya membran atau dinding sel, sehingga sel terbuka dan mengeluarkan isinya. Banyak metode yang tersedia untuk melisis sel, baik secara kimiawi maupun fisik, sonikasi adalah salah satu contoh metode fisik. Lisis sel spesifik dapat dicapai dengan modifikasi kimiawi, enzimatis, mekanik, atau fisik. Sel juga dapat diberi perlakuan dengan agen tertentu untuk membantu proses lisis, antara lain dengan mengondisikan sel dalam larutan hipotonik, sehingga sel lebih mudah pecah, atau memberikan partikel-partikel padat kecil dalam larutan agar dinding sel mendapatkan lebih banyak gaya getar dan lebih cepat lisis.¹⁸

Walaupun demikian, sonikasi dengan intensitas rendah terhadap bakteri yang melekat di permukaan polietilen terbukti meningkatkan kecepatan pertumbuhan sel karena kemampuannya membantu pemindahan molekul-molekul kecil dalam larutan. Sonikasi meningkatkan transport molekul-molekul kecil dalam cairan dengan meningkatkan konveksi di cairan yang relatif bergerak mengalir lambat atau stagnan. Perbatasan antara cairan stagnan dengan permukaan solid menyebabkan adanya resistensi terhadap transport molekul-molekul kecil. Peningkatan konveksi mengurangi ketebalan perbatasan tersebut dengan akibat meningkatnya transport ke permukaan. Untuk meningkatkan kecepatan pertumbuhan, dibutuhkan peningkatan transport oksigen dan nutrisi disertai dengan cepatnya pembuangan produk metabolit dari sel.¹⁹

Sonikasi menggunakan gelombang suara pulsatif dan berfrekuensi tinggi untuk mengagitasi dan melisis sel, bakteri, spora, dan jaringan yang teriris tipis. Gelombang suara dihantarkan menggunakan pemancar yang bergetar dalam suspensi sel. Getaran dari pemancar melepaskan energi kinetik yang membentuk gelembung-gelembung mikroskopik, disebut kavitasi.^{18,19} Secara umum, kavitasi dibagi menjadi dua jenis, yaitu kavitasi stabil dan kolaps. Kavitasi stabil adalah gelembung yang bergetar dengan intensitas rendah tanpa diikuti pecahnya gelembung secara sempurna, sedangkan kavitasi kolaps terjadi pada intensitas getaran yang lebih tinggi dan dengan kuat mempengaruhi cairan di sekelilingnya.²⁰ Kavitasi stabil membantu proses konveksi oksigen dan nutrisi¹⁹, sementara meledaknya kavitasi kolaps menghasilkan gaya regang ekstrim yang

dapat menghancurkan membran²¹. Kavitas kolaps karena mengalami kompresi hingga radius mendekati 0, sesaat setelah dinding-dinding kavitas bersentuhan, gas yang dikompresi secara adiabatik dalam kavitas meledak dan membentuk gelombang kejut, serta melepaskan panas hingga 5000 K.¹⁹ Suhu yang sedemikian tinggi dapat memfragmentasi air dan molekul lain menjadi radikal bebas. Terbentuknya radikal bebas, suhu yang sangat tinggi, dan gelombang kejut merupakan mekanisme perusakan sel oleh kavitas kolaps.²⁰

Produksi kavitas kolaps memiliki batas intensitas, di bawah batas ini tidak terbentuk kavitas kolaps sama sekali, tetapi kavitas stabil terbentuk spontan. Pada intensitas rendah tersebut, gaya regang kavitas stabil tidak sekuat kavitas kolaps. Namun, gaya tersebut cukup untuk mengganggu membran sel-sel tertentu, terutama bakteri gram negatif²⁰, karena resistensi sel dan virus terhadap sonikasi tergantung karakteristik membran, dinding sel, atau selubung proteinnya.¹⁸ Dalam hal ini, dinding sel bakteri gram negatif sebagian besar tersusun oleh protein dan hanya mengandung sedikit lipopolisakarida³, sedangkan dinding sel bakteri gram positif yang lebih tebal dan kuat membuatnya cenderung tidak terpengaruh oleh ultrasonikasi.²²

Terganggunya integritas membran sel dapat meningkatkan permeabilitas meskipun hanya bersifat sementara, karena kerap kali sel memiliki kemampuan meregenerasi membran plasmanya. *P.aeruginosa* yang diberi perlakuan sonikasi ultrasonik menunjukkan peningkatan permeabilitas lapisan lipid bilayer, sehingga stabilitas ikatan molekul-molekul lipopolisakarida terganggu. Hal tersebut meningkatkan permeabilitas *P.aeruginosa* terhadap antibiotik jenis nitrocefin.²⁰ Selain itu, sonikasi juga dimanfaatkan dalam penegakkan diagnosis dan penanganan infeksi *P.aeruginosa*²³, serta mencegah dan menangani infeksi oportunistik pada luka kronik, seperti ulkus diabetik.²⁴

2.4. Pengenceran serial

Setelah bakteri disonifikasi, maka bakteri yang ada perlu dihitung. Penghitungan secara langsung dengan menggunakan mikroskop dan metode kimia adalah beberapa contoh metode penghitungan. Namun, cara-cara tersebut kebanyakan memiliki kekurangan karena bakteri yang mati pun ikut terhitung. Oleh karena itu, untuk penghitungan bakteri pada percobaan ini dilakukan teknik pengenceran serial.¹⁷

Prosedur teknik pengenceran serial yaitu:

1. Tabung kultur berisi *P.aeruginosa* yang sudah disonifikasi, dilabeli nomor 1 dan sembilan tabung berisi 9 ml akuades steril lainnya dilabeli nomor 2 hingga 10.
2. Plat steril juga dilabeli dengan tulisan 1A, 1B, 2A, 2B, dan seterusnya hingga 10B.
3. Tabung nomor 1 diletakkan pada vortex agar tercampur merata.
4. Dengan menggunakan pipet steril, 1 ml suspensi bakteri pada tabung nomor 1 dipindahkan ke tabung nomor 2. Dengan demikian telah terjadi pengenceran 10 kali semula.
5. Agar tercampur sempurna, tabung nomer 2 dihomogenisasi menggunakan vortex. Kemudian kembali diambil 1 ml untuk dipindahkan ke tabung nomor 3.
6. Hal di atas dilanjutkan dengan cara yang sama hingga mencapai tabung nomer 10. Pada tabung terakhir, 1 ml larutan dibuang sehingga volume larutan sama untuk setiap tabung.

2.5. Teknik *Pour Plate*

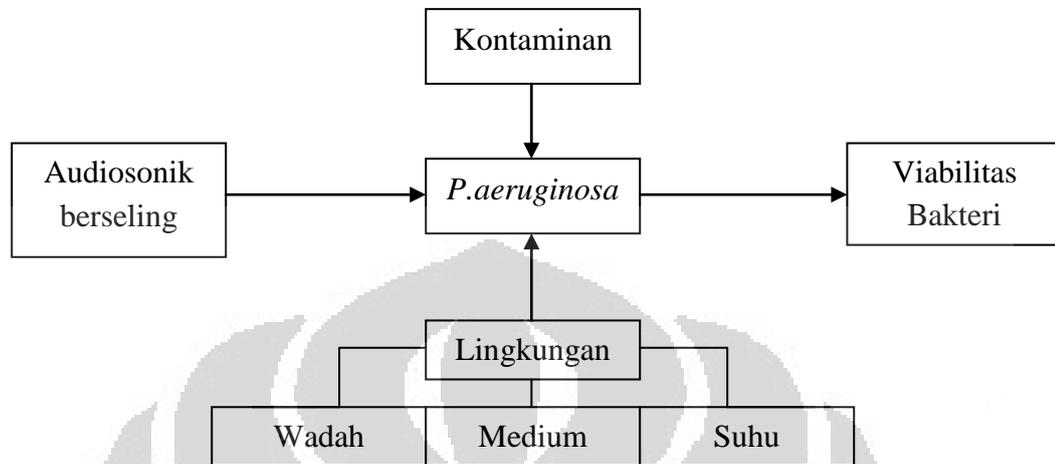
Setelah diencerkan, suspensi bakteri kemudian ditempatkan pada media nutrisi yang cocok untuk berkembangbiak. Teknik *pour plate* merupakan teknik yang umum digunakan. Agar yang digunakan sebagai medium harus didinginkan hingga suhu 45°C.¹⁷

2.6. Pengukuran viabilitas bakteri

Viabilitas adalah peningkatan jumlah seluruh komponen suatu organisme dengan hasil multiplikasi sel. Peningkatan jumlah akibat penyerapan air atau deposit lemak bukan merupakan viabilitas yang sebenarnya.

Konsentrasi bakteri dapat diukur berdasarkan konsentrasi sel atau konsentrasi biomassa. Konsentrasi sel didapatkan dengan menghitung jumlah sel per unit volume kultur, sedangkan konsentrasi biomassa merupakan berat kering sel per unit volume kultur. Kedua parameter ini tidak selalu ekuivalen karena rata-rata berat kering sel bervariasi pada tahap kultur yang berbeda. Keduanya juga tidak memiliki manfaat penghitungan yang sama, di dalam studi genetik atau inaktivasi sel, konsentrasi sel adalah jumlah yang bermakna, sedangkan pada studi nutrisi atau biokimia, konsentrasi biomassa lebih bermakna.³ Karena penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh frekuensi suara terhadap viabilitas sel, maka digunakan penghitungan berdasarkan konsentrasi sel.

2.7. Kerangka Konsep



Keterangan:

Variabel bebas : Perlakuan yang diberikan kepada subjek, berupa frekuensi audiosonik berseling

Variabel kontrol : Lingkungan sebagai tempat perlakuan diberikan, keadaan antarsampel disamakan untuk meminimalisasi pengaruh lingkungan terhadap hasil

Variabel perancu : Faktor-faktor yang dapat merubah hasil penelitian walaupun sudah dilakukan penyamaan keadaan berupa kontaminan

Variabel tergantung : Hasil akhir dari interaksi subjek penelitian dengan agen, perancu, dan lingkungan, yaitu viabilitas bakteri

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorik.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian diadakan pada

Hari/Tanggal : 9 Januari 2010 – 20 Januari 2010

Tempat : Laboratorium Mikrobiologi

Departemen Mikrobiologi FKUI

Jl. Pegangsaan Timur No. 16

Jakarta Pusat

3.3. Bahan, Alat Penelitian, dan Cara Kerja

3.3.1. Bahan Penelitian

1. *Brain Heart Infusion* (BHI)
2. Agar nutrisi
3. *Plate Count Agar* (PCA)
4. Bakteri *P.aeruginosa*
5. Akuades steril
6. Es
7. Alkohol

3.3.2. Alat Penelitian

- | | |
|---|---------------------------|
| 1. Sengkelit / jarum inokulasi 10 μ l | 7. Tabung reaksi |
| 2. Mikropipet ukuran 1000 μ l | 8. Gelas ukur |
| 3. Tip | 9. Pipet gondok |
| 4. Wadah sonikasi (tabung falkon atau gelas kaca) | 10. Inkubator |
| 5. Sonikator | 11. <i>Colony counter</i> |
| 6. Wadah es | 12. <i>Stopwatch</i> |
| | 13. Pemanas air |
| | 14. Timbangan |

- | | |
|---|-------------------|
| 15. Sendok | 20. Sarung Tangan |
| 16. Alat penguap | 21. Masker |
| 17. Termometer | 22. Vortex |
| 18. Cawan petri dari gelas/plastik
(90-100 mm) | |
| 19. Otoklaf | |



Gambar 3.1. Inkubator untuk menjaga suhu optimal bagi viabilitas koloni bakteri

3.3.3. Cara Kerja

3.3.3.1. Pembuatan media perkembangbiakan

A. *Brain Heart Infusion (BHI)*²⁵

BHI digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan bakteri yang dilihat dari kekeruhannya. Peneliti menggunakan serbuk BHI OXOID yang dilarutkan ke dalam 1 liter media dengan komposisi sebagai berikut:

- 12,5 gram infusi padat otak sapi
- 5,0 infusi padat jantung sapi
- 10,0 g protease pepton
- 5,0 g natrium klorida
- 2,0 g glukosa
- 2,5 g dinatrium fosfat

Pembuatan media BHI adalah sebagai berikut:

1. Seluruh bahan dicampur menjadi satu.
2. Diambil 37 gram bahan yang telah dicampur untuk dilarutkan ke dalam 1000 ml akuades steril.
3. Larutan dimasak sambil diaduk sampai mendidih.
4. Setelah mendidih, larutan diangkat dan disaring dengan kertas saring hingga media menjadi jernih.
5. Larutan disterilisasi dalam otoklaf.
6. Larutan dituang sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi berukuran 10 ml.

B. Agar Nutrisi²⁶

Agar nutrisi digunakan untuk meremajakan bakteri yang akan digunakan dalam percobaan. Komposisi menurut DIFCO LABORATORIES INCORPORATED untuk membuat 1000 ml agar nutrisi adalah:

1. 3 gram ekstrak daging sapi
2. 5 gram pepton
3. 5 gram natrium klorida
4. 1000 ml akuades steril
5. 15gram agar difco

Berikut adalah langkah-langkah pembuatan agar:

1. Bahan-bahan dicampur menjadi satu dengan 1000 ml akuades steril.
2. Larutan dimasak sambil diaduk hingga mendidih.
3. Larutan disaring hingga menjadi jernih.
4. Larutan kemudian disterilisasi dalam otoklaf.
5. Media yang sudah steril dapat digunakan jika suhunya telah mencapai 45 °C.

C. Plate Count Agar (PCA)²⁵

PCA digunakan untuk menumbuhkan koloni bakteri kontrol dan yang telah diberi perlakuan. Komposisi PCA OXOID dalam membuat 1000 ml PCA adalah sebagai berikut:

1. Tripton 5 g
2. Ekstrak ragi 2,5 g
3. Glukosa 1,0 g
4. Agar 9,0 g

Berikut adalah langkah-langkah pembuatan agar:

1. Bubuk bahan dicampur dan diambil sebanyak 17,5 gram kemudian dicampur menjadi satu dengan 1000 ml akuades steril.
2. Larutan dimasak sambil diaduk sampai mendidih.
3. Larutan disaring sampai menjadi jernih.
4. Larutan kemudian disterilkan dalam otoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit.
5. Media kemudian dapat digunakan jika telah mencapai suhu 45 °C.



Gambar 3.2. Agar PCA dalam kolf. Setiap kolf berisi 500 ml agar PCA

3.3.3.2. Sterilisasi Alat dan Media

A. Media

Media yang sudah dibuat disterilkan dalam otoklaf. Setelah pintu otoklaf ditutup rapat, tunggu hingga beruap, kemudian tingkatkan temperatur hingga 120 °C dengan tekanan 2 atmosfer atau 15 lbs di jarum penunjuk. Setelah pengaturan dilakukan, proses sterilisasi berlangsung selama 10-15 menit. Kemudian matikan otoklaf dan tunggu tekanan menjadi 0 sebelum otoklaf dibuka dan media diambil.

B. Alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilkan dalam otoklaf dengan cara yang sama. Khusus tabung reaksi, sumbat mulut tabung terlebih dahulu dengan kapas sebelum disterilkan.

3.3.3.3. Peremajaan Bakteri

1. Disiapkan bunsen, kultur bakteri yang hendak diinkubasi, tabung reaksi berisi BHI, serta sengkeliit.
2. Sengkeliit disterilkan dengan cara dipanaskan di atas bunsen hingga menyala merah.
3. Bakteri diambil dari media sebanyak satu sengkeliit.
4. Bakteri kemudian dicampurkan ke dalam larutan BHI.
5. Langkah 2 sampai 4 dilakukan sebanyak tiga kali, 1 tabung untuk kontrol dan 2 tabung lain untuk perlakuan.
6. Ketiga tabung reaksi berisi bakteri diinkubasi di suhu 35 °C selama 18-24 jam.

3.3.3.4. Sonikasi Bakteri

Untuk perlakuan dilakukan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Biakan bakteri dipindahkan dari tabung pertama ke dalam wadah sonikasi.
2. Wadah sonikasi diletakkan dalam es untuk menjaga suhu biakan tidak meningkat akibat proses sonikasi.
3. *Tip* (ujung) sonikator dibersihkan dengan alkohol sebelum perlakuan untuk mencegah kontaminasi.

4. Ujung sonikator dicelup ke dalam biakan bakteri tanpa menyentuh dasar wadah sonikasi.
5. Sonikator dinyalakan pada frekuensi 7 kHz secara berseling setiap 1 detik selama 10 detik. Setelah perlakuan, bakteri dikembalikan ke dalam tabung reaksi dan ditandai "F1".
6. Langkah 1-4 diulang dengan biakan dari tabung kedua.
7. Sonikator dinyalakan pada frekuensi 17 kHz secara berseling setiap 1 detik selama 10 detik. Setelah perlakuan, bakteri dikembalikan ke dalam tabung reaksi dan ditandai "F2".
8. Tabung reaksi ketiga ditandai "Kontrol" tanpa diberikan perlakuan.



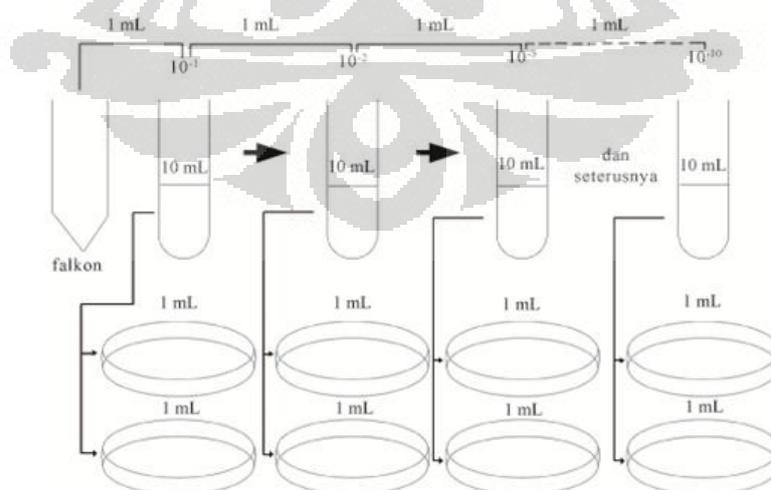
Gambar 3.3. Sonikasi dilakukan dalam wadah terendam es untuk mencegah peningkatan suhu selama proses sonikasi

3.3.3.5. Total Plate Count (TPC)^{17,27}

Masing-masing biakan bakteri, yaitu F1, F2, dan Kontrol, dikembangbiakan dengan cara sebagai berikut:

1. Diambil 1 ml biakan untuk dicampurkan dengan 9 ml akuades steril dalam tabung reaksi.
2. Dari hasil pencampuran, dipindahkan 1 ml biakan yang sudah diencerkan ke dalam plat steril. Langkah ini dilakukan dua kali pada plat A dan B yang telah ditandai 10^{-1} sebagai penanda konsentrasi bakteri.

3. PCA dengan suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ ditambahkan ke dalam plat steril berisi biakan bakteri hingga menutupi seluruh permukaan plat dengan jumlah kurang lebih 20 ml.
4. Dari hasil pencenceran nomor 1, diambil 1 ml biakan dan dicampurkan dengan 9 ml akuades steril dalam tabung reaksi lain, sehingga terjadi pengenceran 10 kali lipat.
5. Dari hasil pengenceran nomor 4, dipindahkan 1 ml biakan yang sudah diencerkan ke dalam plat steril. Langkah ini dilakukan dua kali pada plat A dan B yang telah ditandai 10^{-2} sebagai penanda konsentrasi bakteri.
6. PCA dengan suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ ditambahkan ke dalam plat steril berisi biakan bakteri hingga menutupi seluruh permukaan plat dengan jumlah kurang lebih 20 ml.
7. Diambil 1 ml dari pengenceran bakteri di nomor 4 dan ditambahkan dengan 9 ml akuades steril pada tabung lainnya, sehingga pengenceran meningkat 10 kali lipat.
8. Kegiatan terus diulang hingga dimiliki dua plat, A dan B, berisi PCA dan bakteri dengan konsentrasi 10^{-10} .
9. Sebelum agar membeku, plat diputar ke kiri dan ke kanan masing-masing sebanyak 12 putaran agar bakteri terhomogenisasi dalam PCA.
10. Setelah agar membeku, semua plat diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam.



Gambar 3.4. Skema pengenceran dan perkembangbiakan bakteri

3.3.3.6. Menghitung koloni bakteri

Jumlah koloni bakteri pada plat steril dihitung dengan menggunakan *colony counter*. Dipilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 30-300 setiap cawan.²⁷ Jumlah koloni yang valid kemudian dirata-rata dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Hasilnya dinyatakan sebagai jumlah bakteri per milliliter atau gram.

Dalam pelaporan jumlah koloni hanya digunakan 2 angka penting, yaitu angka yang pertama dan kedua dari kiri, sedangkan angka yang ketiga diganti dengan 0 apabila kurang dari 5 dan dijadikan satu jika lebih atau sama dengan 5 kemudian ditambahkan pada angka kedua.

3.4. Identifikasi Variabel

Variabel bebas : frekuensi suara, cara pemaparan suara, lamanya pemaparan suara

Variabel terikat : jumlah koloni *P.aeruginosa*

Variabel perancu : kontaminasi bakteri lain

3.5. Definisi Operasional

P.aeruginosa adalah spesies anggota genus *Pseudomonad*, merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang dengan panjang 2-4 μm , dan memiliki flagella.

Sengkelit adalah alat untuk mengambil biakan bakteri, baik dari medium cair maupun padat. Sengkelit yang digunakan pada penelitian ini berukuran 100 μl .

Sonikator adalah alat yang digunakan untuk memberi pajanan gelombang suara terhadap kultur bakteri dengan frekuensi yang dapat dimanipulasi.

Audiosonik adalah rentang gelombang suara yang dapat didengar manusia dengan frekuensi antara 20 dan 20.000 Hz.

Media perkembangbiakan adalah media yang digunakan bakteri untuk berkembang biak. Pada percobaan ini digunakan dua media, yaitu BHI dan PCA. Frekuensi suara adalah banyaknya getaran suara per detik.

Total plate count adalah cara yang digunakan untuk menghitung koloni bakteri.

3.6. Alur Penelitian

Persiapan Media Perkembangbiakan (Agar Nutrisi)



Peremajaan *P.aeruginosa* pada BHI



Sonikasi *P.aeruginosa*



Perkembangbiakan *P.aeruginosa* pada PCA



Penghitungan Koloni *P.aeruginosa*

3.7. Manajemen dan Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis secara kuantitatif untuk mendapatkan kesimpulan penelitian. Data yang akan dianalisis adalah data dengan nilai bermakna, yaitu jumlah koloni bakteri antara 30-300 pada konsentrasi biakan manapun.

3.8. Etika Penelitian

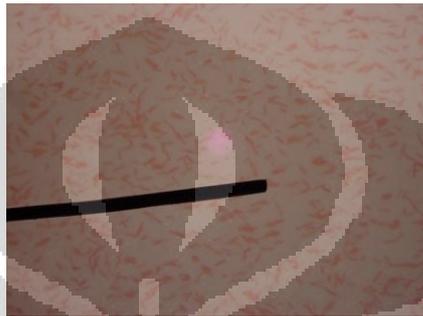
Proposal penelitian ini akan diajukan kepada komisi etik FKUI untuk mendapatkan legitimasi etik sehingga penelitian dapat dipertanggungjawabkan secara etika.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

4.1. Karakteristik Bakteri *P.aeruginosa*

Pewarnaan gram pada kultur *P.aeruginosa* menunjukkan gambaran bakteri berbentuk batang dan berwarna merah yang menunjukkan sifat *P.aeruginosa* sebagai bakteri gram negatif.



Gambar 4.1. Hasil pewarnaan gram bakteri *P.aeruginosa*

Sementara secara makroskopis, *P.aeruginosa* yang ditumbuhkan pada agar MacConkey memberikan gambaran sebagai berikut.



Gambar 4.2. Pertumbuhan *P.aeruginosa* di atas agar MacConkey

Hasil kultur menunjukkan kesesuaian karakteristik bakteri *P.aeruginosa* dengan sumber kepustakaan yang menyebutkan bakteri *P.aeruginosa* bersifat gram negatif dan berbentuk batang bulat.

4.2. Hasil Penelitian

Dari hasil percobaan, peneliti mendapatkan hasil sebagaimana tertera dalam table berikut. Inf berarti jumlah lebih dari 300 dan penghitungan tidak dilanjutkan.

Tabel 4.1. Hasil Penghitungan Jumlah Koloni *P.aeruginosa* dengan Menggunakan *Colony Counter*

Pengenceran	Perlakuan					
	K		F1		F2	
	A	B	A	B	A	B
10^{-1}	>300	>300	>300	>300	>300	>300
10^{-2}	>300	>300	>300	>300	>300	>300
10^{-3}	>300	>300	>300	>300	>300	>300
10^{-4}	>300	>300	>300	>300	>300	>300
10^{-5}	>300	>300	>300	>300	>300	>300
10^{-6}	>300	>300	>300	>300	>300	>300
10^{-7}	286	277	172	199	283	257
10^{-8}	48	38	49	40	25	28
10^{-9}	10	3	6	2	3	1
10^{-10}	1	1	0	1	0	0

Keterangan:

K = Kontrol

F1 = Perlakuan sonikasi 7 kHz secara berseling setiap 1 detik selama 10 detik

F2 = Perlakuan sonikasi 17 kHz secara berseling setiap 1 detik selama 10 detik

Jumlah koloni yang dianggap bermakna pada penghitungan adalah di antara 30 dan 300 koloni. Penghitungan koloni pada plat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} berjumlah lebih dari 300 koloni per plat, sehingga penghitungan tidak dilanjutkan. Hasil penghitungan jumlah koloni kemudian dihitung menjadi jumlah koloni pada berbagai konsentrasi (cara penghitungan dilampirkan) lalu diolah menggunakan SPSS[®] 17 dan didapatkan hasil sebagai berikut.

Universitas Indonesia

Tabel 4.2. Perbandingan Rerata Jumlah Koloni *P.aeruginosa* pada F1, F2, dan Kontrol

Perlakuan	Rata-rata jumlah bakteri (CFU)	Viabilitas (%)	Uji kemaknaan (95% IK)*
Kontrol	$3,56 \times 10^9$	100,0	Uji T berpasangan
7 kHz, 10 detik, berseling	$3,15 \times 10^9$	88,48	p=0,176
17 kHz, 10 detik, berseling	$2,68 \times 10^9$	75,28	p=0,196

*bermakna jika $p < 0,05$

Analisis statistika terhadap hasil penelitian yang dimuat dalam Tabel 4.2 menunjukkan bahwa setelah pemaparan audiosonik secara berseling pada frekuensi 7 kHz dan 17 kHz, viabilitas *P.aeruginosa* berkurang masing-masing menjadi 88,48% dan 75,28% jika dibandingkan dengan kontrol dan keduanya tidak bermakna secara statistika. Pada percobaan ini, viabilitas bakteri setelah pemaparan frekuensi 17 kHz berkurang sebanyak 14,91% jika dibandingkan dengan viabilitas bakteri setelah pemaparan frekuensi 7 kHz.

BAB 5 DISKUSI

5.1. Perbandingan Viabilitas *P.aeruginosa* antara Kontrol dengan Pemaparan Frekuensi Suara dalam Rentang Audiosonik Secara Berseling

Dari hasil penelitian yang telah dicantumkan pada bab sebelumnya, peneliti menemukan bahwa pemaparan frekuensi suara 7 kHz dan 17 kHz menghambat viabilitas *P.aeruginosa* dibandingkan dengan kontrol, meskipun secara statistik hasil penghitungan pada kedua percobaan tidak bermakna.

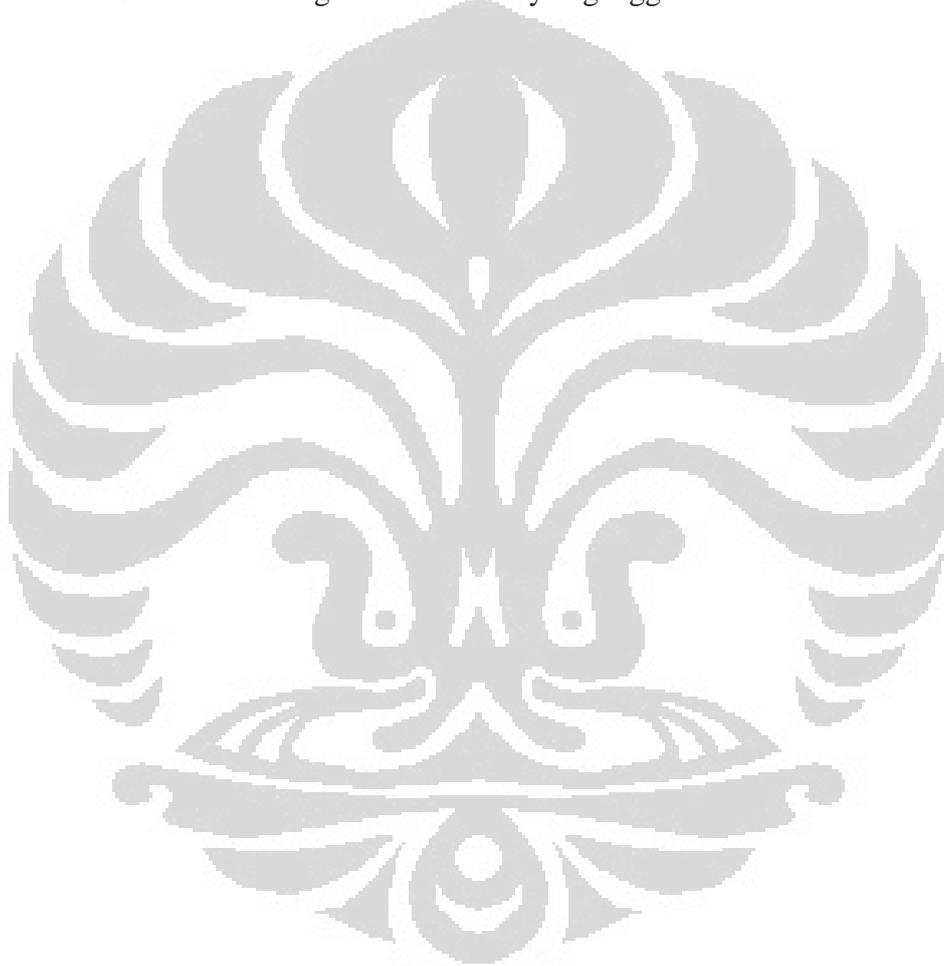
Meskipun belum ada penelitian yang menghubungkan pemberian frekuensi audiosonik dengan viabilitas bakteri, hasil penelitian ini memperkuat teori bahwa viabilitas bakteri gram negatif akan diinhibisi oleh pemaparan frekuensi suara ultrasonik^{18,20}. Salah satu faktor yang membedakan respon bakteri gram positif dan negatif terhadap sonikasi adalah struktur dinding dan membran selnya^{3,7,18}, di mana bakteri gram positif memiliki dinding yang lebih tebal dan kuat dibandingkan bakteri gram negatif, sehingga cenderung tidak terpengaruh oleh ultrasonikasi.²²

Selain itu, penelitian ini juga sejalan dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang meneliti pengaruh sonikasi pada frekuensi ultrasonik dalam meningkatkan permeabilitas²⁰, menekan pertumbuhan²³, bahkan mengatasi infeksi *P.aeruginosa* pada luka kronik.²⁴

Berlawanan dengan hasil penelitian dan beberapa sumber referensi yang digunakan peneliti, Pitt dan Ross menemukan bahwa ultrasonikasi pada frekuensi 70 kHz dapat meningkatkan pertumbuhan *P.aeruginosa* dalam wujud biofilm di atas membran *reverse osmosis*. Hal ini dikarenakan biofilm *P.aeruginosa* melindunginya dari kerusakan langsung akibat kavitas kolaps sementara menambah konveksi oksigen dan nutrien.¹⁹ Namun, kultur yang digunakan oleh peneliti adalah suspensi bakteri yang sepenuhnya terpajan terhadap kavitas-kavitas produk sonikasi.

5.2. Perbandingan Viabilitas *P.aeruginosa* pada Perbedaan Frekuensi Sonikasi

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan tingkat inhibisi pada kedua tingkat frekuensi yang dipaparkan terhadap kultur *P.aeruginosa*, dengan efek inhibisi F2 (17 kHz) lebih kuat 14,9% dibandingkan efek inhibisi F1 (7 kHz). Hasil penelitian ini sesuai dengan teori kavitasi, di mana semakin tinggi frekuensi suara, semakin banyak kavitas kolaps yang terbentuk, sehingga dinding dan membran sel bakteri mengalami lebih banyak gangguan.



BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan pengaruh paparan frekuensi suara pada frekuensi audiosonik, yaitu 7 kHz dan 17 kHz, terhadap viabilitas bakteri *P.aeruginosa*.

Hasil dari penelitian ini adalah frekuensi audiosonik yang dipaparkan memiliki efek inhibisi terhadap viabilitas *P.aeruginosa*, dengan frekuensi 17 kHz bersifat lebih inhibitorik dibandingkan dengan frekuensi 7 kHz. Pada paparan 17 kHz, tumbuh koloni *P.aeruginosa* sebanyak $2,68 \times 10^9$, sedangkan pada paparan 7 kHz, 14,9% lebih sedikit dibandingkan jumlah viabilitas setelah paparan frekuensi suara 7 kHz, yaitu $3,15 \times 10^9$.

Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi usaha pencarian penanganan terbaik pada infeksi *P.aeruginosa*. Penelitian ini juga diharapkan menambah pengetahuan peneliti mengenai penelitian itu sendiri.

5.2. Saran

Peneliti mengharapkan agar tersedia fasilitas baru yang memungkinkan dilaksanakannya penelitian dengan variabel yang lebih beragam dan dengan rentang frekuensi suara yang lebih luas. Selain itu, peneliti berharap agar peneliti lain, khususnya mahasiswa SI Kedokteran UI, dapat meningkatkan minat dan perhatian dalam bidang mikrobiologi kedokteran.

Peneliti juga berharap agar adanya penelitian ini membuka jalan bagi penelitian-penelitian baru yang bertujuan memanfaatkan pengaruh paparan frekuensi suara terhadap viabilitas koloni bakteri. Bagi peneliti yang akan melanjutkan penelitian ini dengan lebih mendalam, disarankan untuk mempertegas hubungan yang ada antara paparan frekuensi suara dengan viabilitas koloni bakteri, serta mencari kemungkinan pemanfaatan paparan suara terhadap viabilitas bakteri secara klinis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mavrodi DV, Paulsen IT, Ren Q, Loper JE. Genomics of *Pseudomonas fluorescens* PF-5. In: Ramos JL, Filloux A, editors. *Pseudomonas: a model system in biology*. New York: Springer; 2007. p. 3-30.
2. Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs* [serial on the internet]. 2007; [cited 2009 October 17]; 67(3): 351-368. Available from: <http://www.ingentaconnect.com/content/adis/dgs/2007/00000067/00000003/art00003>.
3. Brooks GF, Butel JS, Carroll KC, Morse SA. Jawetz, Melnick and Adelberg's medical microbiology. 24th ed. San Fransisco: McGraw Hill; 2007. p. 263-265.
4. *Pseudomonas aeruginosa*; Scientists at University of Paris detail research in *Pseudomonas aeruginosa*. Obesity, Fitness & Wellness Week. 2010 Oct 23. In: Academic Research Library [database on the Internet] [cited 2011 Jan 9]. Available from: <http://www.proquest.com/>; Document ID: 2161213531.
5. Karippen PM, Dayou J, Phin CK. Experimental investigation on the effects of audible sound to the growth of *Aspergillus* spp. *MAS*. 2009 April; 3(4):137-141.
6. Ying JCL, Dayou J, Phin CK. Experimental investigation on the effects of audible sound to the growth of *Escherichia coli*. *MAS*. 2009 March; 3(3):124-127.
7. Levinson W. Review of medical microbiology and immunology. 10th ed. San Fransisco: McGraw Hill; 2008.
8. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM. Medical microbiology. 10th ed. Stuttgart: Thieme; 2005.p.146,308.
9. Zago A, Chugani S. *Pseudomonas*. In: Schaechter M, editor. *Encyclopedia of microbiology*. 3rd ed. Volume 2. Singapore: Academic Press; 2009: 245-260.

10. Gerald L. Gilardi. *Pseudomonas*. AccessScience [Internet]. McGraw-Hill Companies; 2008 [cited 2010 Oct 17]. Available from: <http://www.accessscience.com>.
11. Masaadeh HA, Jaran AS. Incident of *Pseudomonas aeruginosa* in post-operative wound infection. *Am. J. Infect. Dis.* 2009; 5(1):1-6.
12. Ferroni A, Nguyen L, Pron B, Quesne G, Brusset MC, Berche P. Outbreak of nosocomial urinary tract infections due to *Pseudomonas aeruginosa* in a paediatric surgical unit associated with tap-water contamination. *Journal of hospital infection.* 1998; 39:301-307.
13. Berthelot P, Grattard F, Mallaval FO, Ros A, Lucht F, Pozzetto B. Epidemiology of nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, and *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie.* 2004 October 14; 53:341-348.
14. Paterson DL, Kim BN. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mayers DL, editor. *Antimicrobial drug resistance*. Berlin: Springer; 2005.
15. Meyer JM. Pyoverdinin siderophores as taxonomic and phylogenetic markers. In: Ramos JL, Filloux A, editors. *Pseudomonas: molecular microbiology, infection, and biodiversity*. New York: Springer; 2010:201-226.
16. Charyulu, E.M. and A. Gnanamani, 2010. Condition stabilization for *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 5210 to yield high titers of extra cellular antimicrobial secondary metabolite using response surface methodology. *Curr. Res. Bacteriol.*, 3: 197-213.
17. Cappuccino, Sherman. *Microbiology: a laboratory manual*. 7th Ed. India: Pearson Education; 2005. p 131-3.
18. Belgrader PI, Yuan B, inventors. MicroFluidic Sustems, Inc., assignee. Sonication to selectively lyse different cell types. United States patent US 2005/0064575 A1. 2005 Mar 24.
19. Pitt WG, Ross SA. Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth. *Biotechnol Prog.* 2003; 19(3):1038-1044.
20. Runyan CM, Carmen JC, Beckstead BL, Nelson JL, Robinson RA, Pitt WG. Low-frequency ultrasound increases outer membrane permeability of

- Pseudomonas aeruginosa*. J.Gen.App.Microbiol. 2006 Sept 20; 52:265-301.
21. M. W. Miller, D. L. Miller, and A. A. Brayman, "A review of in vitro bioeffects of inertial ultrasonic cavitation from a mechanistic perspective," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 22, no. 9, pp. 1131–1154, 1996.
 22. Conner-Kerr T, Alston G, Stovall A, Vernon T, Winter D, Meixner J, Grant K, Kute T. The effects of low frequency ultrasound (35 kHz) on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in vitro. *Ostomy Wound Management*. 2010; 56(5):32-42.
 23. Monsen T, Lovgren E, Widerstrom M, Wallinder L. In vitro effect of ultrasound on bacteria and suggested protocol for sonication and diagnosis of prosthetic infections. *J.Clin.Microbiol*. 2009 Aug; 47(8):2496-2501.
 24. Serena T, Lee SK, Lam K, Attar P, Meneses P, Ennis W. The impact of noncontact, nonthermal, low-frequency ultrasound on bacterial counts in experimental and chronic wounds. *Ostomy Wound Manage*. 2009 Jan; 55(1):22-30.
 25. OXOID. The Oxoid manual. 5th ed. Hampshire: OXOID Limited; 1982.
 26. DIFCO BBL. Manual. Manual of microbiology culture media. 2nd ed. Maryland: Bector Dickinson and Cooperation; 2009.
 27. Dewan Standardisasi Nasional. Cara uji cemaran mikroba. SNI 01-2897-1992. Standar Nasional Indonesia, p6-8. 1992.

LAMPIRAN

Tabel Jumlah Koloni *P.aeruginosa* pada Berbagai Konsentrasi

Pengenceran	Jumlah Koloni					
	K		F1		F2	
	A	B	A	B	A	B
10^{-1}	>3	>3	>3	>3	>3	>3
10^{-2}	>3	>3	>3	>3	>3	>3
10^{-3}	>3	>3	>3	>3	>3	>3
10^{-4}	>3	>3	>3	>3	>3	>3
10^{-5}	>3	>3	>3	>3	>3	>3
10^{-6}	>3	>3	>3	>3	>3	>3
10^{-7}	2,86	2,77	1,72	1,99	2,83	2,57
10^{-8}	4,8	3,8	4,9	4,0	2,5	2,8
10^{-9}	10	3	6	2	3	1
10^{-10}	0,1	0,1	0	0,1	0	0
Rata-rata	3,56		3,15		2,7	

Keterangan:

K = Kontrol

F1 = Perlakuan sonikasi 7 kHz secara berseling setiap 1 detik selama 10 detik

F2 = Perlakuan sonikasi 17 kHz secara berseling setiap 1 detik selama 10 detik

Penghitungan jumlah koloni per plat (Tabel 2) didapatkan dari perkalian jumlah koloni yang dihitung dengan *colony counter* (Tabel 1) dengan invers faktor pengenceran. Misalnya, pada plat A pengenceran 10^{-7} didapatkan koloni sebanyak 286, sehingga jumlah koloni jika dikembalikan ke konsentrasi 10^0 adalah $286 * 10^7 = 2,86 * 10^9$ /mL. Sedangkan untuk menghitung rata-rata, hanya digunakan data dengan jumlah koloni antara 30-300 dengan tingkat pengenceran terendah. Data yang bermakna secara analitik dicetak tebal di Tabel 1 dan Tabel 2.

Universitas Indonesia

Analisis rata-rata hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas bakteri *P.aeruginosa* berkurang dengan perlakuan sonikasi pada frekuensi 7 kHz dan 17 kHz. Pada perlakuan F1, di mana bakteri dipaparkan frekuensi 7 kHz berseling, viabilitas berkurang 11,52% dibandingkan kontrol. Sementara pemaparan bakteri terhadap frekuensi 17 kHz berseling pada perlakuan F2, viabilitas berkurang sebesar 24,16%. Peningkatan frekuensi sebesar kHz pada F2 dibandingkan F1 menekan viabilitas bakteri hingga 14,29%.

