

**EFEKTIVITAS PENGGUNAAN VOLTASE RENDAH
PADA STERILISASI MEDIA BIAKAN BAKTERI**

The Effectiveness Of Low Voltage Usage In Sterilizing Bacterial Culture Media

Rodhiansyah Djayasinga

Poltekkes Tanjungkarang-Bandar Lampung

Email: djayasinga85@gmail.com

Phone No: 0823 7523 6797 / 0811 7222 007

Abstract

The important treatment of culture media before being used is by sterilizing growth medium first to avoid contamination from contaminant bacteria which can ruin the result of bacteria in treatment ingredients. Nowadays, many researchers develop new methods to sterilize, like; disinfecting microorganisms with electrochemistry, electro-sterilization uses graphite electrode on liquid culture media nutrient broth produces the decrease in bacteria rate by 16.7%.. This research tends experiment whose subject is culture media nutrient broth, dependent variable is a number of dead bacteria and culture media nutrient broth, independent variable is 8 electric potentials, 10 volts, and duration 5 until 10 minutes. Electro-sterilization treatment in subject is 4 with 6 times repeat. Data collecting method use observation instruments of sterility test result culture media nutrient broth. The result of data bivariate analysis uses anova test determined that electro-sterilization will be effective and efficient if it is done in 10 volts for 10 minutes. Data analysis univariate by using frequent distribution determined that it is 8,3% of all total sample contain dead bacteria. Analysis data uses correlation test determined that culture media nutrient broth which has been given electro-sterilization treatment function as culture media.

Keywords: *Electrosterilization, Electrode, Nutrient Broth*

Abstrak

Perlakuan penting media biakan sebelum digunakan adalah dengan mensterilisasi media perbenihan terlebih dahulu untuk menghindari kontaminasi kuman kontaminan yang dapat mengacaukan hasil identifikasi kuman dalam bahan pemeriksaan. Saat ini, banyak peneliti mengembangkan metode-metode baru untuk sterilisasi antara lain; disinfeksi mikroorganisme menggunakan elektrokimia, elektrosterilisasi menggunakan elektroda grafit pada media biakan cair *nutrient broth* menghasilkan penurunan angka kuman sebesar 16,7%. Penelitian ini bersifat eksperimen dengan subjek penelitian adalah media biakan *nutrient broth*, variabel terikat adalah jumlah kuman yang mati dan media biakan *nutrient broth*, variabel bebas adalah potensial listrik 8 dan 10 volt dan waktu kontak 5, 10 menit. Perlakuan elektrosterilisasi pada subjek penelitian berjumlah 4 dengan 6 kali pengulangan. Teknik pengumpulan data menggunakan instrumen observasi hasil uji sterilitas media biakan *nutrient broth*. Hasil analisa data bivariat menggunakan uji anova diketahui elektrosterilisasi efektif dan efisien dilakukan pada 10 volt dengan waktu kontak 10 menit. Analisa data univariat dengan menggunakan

distribusi frekuensi diketahui bahwa sebesar 8,3% dari total jumlah sampel mengandung kuman mati. Analisa data menggunakan uji korelasi diketahui bahwa media biakan *nutrient broth* yang telah diberi perlakuan elektrosterilisasi masih berfungsi sebagai media biakan.

Kata Kunci : Elektrosterilisasi, Elektroda, *Nutrient Broth*

PENDAHULUAN

Mikrobiologi adalah ilmu pengetahuan mengenai organisme hidup yang berukuran mikroskopis dikenal dengan mikroorganisme atau jasad renik yang hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Mikroorganisme sangat erat kaitannya dengan kehidupan manusia, beberapa diantaranya merugikan karena menyebabkan penyakit dan beberapa juga bermanfaat misalnya terlibat dalam pembuatan anggur, keju, yogurt, produksi insulin, serta proses perlakuan yang berkaitan dengan pembuangan limbah [1]. Pada kegiatan identifikasi bakteri tidak terlepas dari media biakan. Media biakan merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang dipakai untuk menumbuhkan mikroorganisme baik dalam mengkultur bakteri, jamur, dan mikroorganisme lain [2]. Nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk dapat tumbuh dan berkembang biak antara lain karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, dan Fe, vitamin, air, dan energi [3]. Media biakan dapat berupa media cair, media kental (padat), media yang diperkaya, media yang kering dan media yang sintetik [4], media biakan mikroorganisme berupa media padat, media cair dan media semi padat [2].

Media biakan sebelum digunakan untuk menumbuhkan bakteri bagi keperluan identifikasi, terlebih dahulu dilakukan sterilisasi untuk menghindari kontaminasi bakteri lain. Alat sterilisasi yang umum digunakan adalah *autoclave* dan oven. *Autoclave* digunakan dengan cara memanaskan media biakan pada suhu 121°C selama 15 menit dengan

tekanan 1 atm, Penggunaan *autoclave* pada sterilisasi media biakan memiliki beberapa kekurangan yaitu membutuhkan daya listrik yang cukup besar, dan biaya perawatan yang mahal, sedangkan oven umumnya digunakan untuk sterilisasi alat- alat laboratorium. Penggunaan oven untuk sterilisasi media pembiakan kurang tepat karena pada oven tidak dihasilkan tekanan uap jenuh. Berdasarkan beberapa kelemahan dari alat sterilisasi di atas, digagaslah sebuah ide baru dalam proses sterilisasi media biakan alternatif yang lebih efektif dan efisien yaitu menggunakan metode elektrosterilisasi. Metode elektrosterilisasi merupakan metode sterilisasi dengan bantuan arus listrik yang dihantarkan melalui elektroda yang digunakan pada proses elektrolisis. Keuntungan yang didapatkan dari penggunaan metode ini yakni, waktu yang dibutuhkan untuk sterilisasi relatif lebih cepat, daya listrik yang digunakan sedikit, rangkaian alat yang digunakan sederhana, reaktor elektrolisis dapat dibuat sesuai dengan kebutuhan, serta dapat digunakan kembali. Keuntungan lain dari metode elektrosterilisasi yaitu desinfeksi dapat digantikan dengan klorinasi yang dihasilkan dari gas klorin yang berbahaya [5].

Penelitian lain melaporkan Aplikasi elektodesinfeksi menggunakan bakteri *E.coli* yang terdapat pada air laut dan air *ballast* untuk mengembangkan reaktor elektodesinfeksi yang dapat memenuhi IMO pedoman D-2 untuk organisme yang hidup di pembuangan air *ballast* [6]. Hasil penelitian menunjukkan metode elektrokimia yang

digunakan menunjukkan bahwa klorin menjadi agen disinfektan utama dengan bakteri tersebut. Pada percobaan dengan HRT (*Hydrolic Retention Time*) optimal pada 30 s dan 0,3 A. Konsumsi energi optimal pada kinerja reaktor adalah 0,004 kWh/m³. Konsentrasi total residu klorin pada kondisi di atas adalah 1 mg/L dan efisiensi desinfeksi adalah 99,99% [6]. Penelitian lainnya telah melakukan regenerasi air limbah perkotaan dengan menggunakan metode elektrod desinfeksi dan elektrokoagulasi yang menggunakan BDD (*Boron Doped Diamond*) atau DSA (*Dimensional Stable Anode*) sebagai katoda dan SS (*Stainless Steel*) sebagai katoda dan plat aluminium berlubang sebagai elektroda bipolar antara katoda dan anoda [7]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses elektrodifensi atau elektrokoagulasi, dengan BDD atau DSA anoda dan berlubang aluminium elektroda bipolar, memungkinkan menghapus secara

mekanisme desinfeksi lain yang berkontribusi sekitar 20% dari inaktivasi simultan *E. coli* dan kekeruhan yang ada dalam air limbah perkotaan dengan kepadatan arus yang rendah. Penggunaan anoda BDD untuk menghapus *E. coli* dengan arus listrik dari 0,0077 Ah dm⁻³ yang bekerja dengan kepadatan arus 6.65 A m⁻². Di sisi lain, dengan anoda DSA, kepadatan arus yang diperlukan untuk mencapai total penghapusan *E. coli* adalah lebih tinggi (11.12 A m⁻²) dari yang dibutuhkan dengan anoda BDD [7].

Peneliti lain juga melaporkan telah melakukan elektrodifensi bakteri *E.coli* pada air minum dengan menggunakan elektroda platina sebagai anoda dan karbon sebagai katoda. Dimana hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan aktivitas pada bakteri *E.coli* yang terdapat dalam air minum tersebut [8].

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan Neraca analitik elektrik, *coloni counter iUL MITUTOYO CD-15CP 5/N:0371146*, *ice box*, *Laminar Air Flow*, *magnetic stirrer*, elektroda karbon, voltmeter, oven, inkubator *Yenco Drying (dual purpose) INC/0V 30L*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah Media Perbenihan *nutrient broth*, *plate count* agar.

Prosedur Penelitian

Larutan media perbenihan *nutrient broth* dimasukkan ke dalam *beacker glass*

kemudian dipasangkan 2 buah elektroda karbon. Satu batang elektroda karbon sebagai anoda dan satu batang elektroda karbon yang lain sebagai katoda yang dihubungkan ke arus listrik. Potensial listrik diberikan sebesar 8 dan 10 Volt, dengan masing-masing variasi waktu kontak 10, dan 15 menit. Masing-masing sebanyak 2 mL diambil untuk setiap potensial dan waktu kontak yang berbeda, kemudian dilakukan pemeriksaan perhitungan angka kuman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil elektrostereilisasi media *nutrient broth* (NB) selanjutnya dihitung menggunakan metoda PCA seperti disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Koloni Bakteri Menggunakan Metoda PCA.

No	Media perbenihan NB yang diberi perlakuan elektrosterilisasi	Hasil		
		Perhitungan angka Kuman metode TPC	Inkubasi media perbenihan NB yang diberi perlakuan elektrosterilisasi	
			Keruh	Tidak Keruh
1	8 V 5 menit A	9090	Keruh	0
2	8 V 5 menit B	10360	Keruh	0
3	8 V 5 menit C	7400	Keruh	0
4	8 V 5 menit D	8430	Keruh	0
5	8 V 5 menit E	12910	Keruh	0
6	8 V 5 menit F	7290	Keruh	0
7	8 V 10 menit A	4080	Keruh	0
8	8 V 10 menit B	3150	Keruh	0
9	8 V 10 menit C	1330	Keruh	0
10	8 V 10 menit D	7290	Keruh	0
11	8 V 10 menit E	1150	Keruh	0
12	8 V 10 menit F	4310	Keruh	0
13	10 V 5 menit A	2610	Keruh	0
14	10 V 5 menit B	3220	Keruh	0
15	10 V 5 menit C	1250	Keruh	0
16	10 V 5 menit D	2010	Keruh	0
17	10 V 5 menit E	2790	Keruh	0
18	10 V 5 menit F	2362	Keruh	0
19	10 V 10 menit A	40	Keruh	0
20	10 V 10 menit B	850	Keruh	0
21	10 V 10 menit C	1850	Keruh	0
22	10 V 10 menit D	690	Keruh	0
23	10 V 10 menit E	0	Keruh	0
24	10 V 10 menit F	0	Keruh	0

Sebagai pembandingan dilakukan juga perhitungan angka kuman menggunakan metode PCA terhadap media media *nutrient broth* yang tidak dilakukan elektrosterilisasi, hasil perhitungan seperti ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Angka Bakteri Metode PCA terhadap Media Biakan *Nutrient Broth* yang Tidak Dilakukan Elektrosterilisasi

Media perbenihan NB yang tidak diberi perlakuan elektrosterilisasi	Hasil		
	Perhitungan angka kuman metode TPC	Inkubasi media perbenihan NB yang diberi tidak di beri perlakuan elektrosterilisasi	
		Keruh	Tidak Keruh
1	40530	Keruh	0
2	42680	Keruh	0
3	44570	Keruh	0
4	39480	Keruh	0
5	58580	Keruh	0
6	49300	Keruh	0

selanjutnya data pada Tabel 1 dilakukan uji statistik menggunakan program SPSS 20 yang hasilnya seperti ditunjukkan pada Tabel dibawah ini :

Tabel 3. Hasil Perhitungan Persentase Angka Bakteri Metode PCA Terhadap Media Biakan *Nutrient Broth* Perlakuan Elektrosterilisasi Berdasarkan Analisis Univariat Menggunakan Distribusi Frekuensi

Perlakuan Elektrosterilisasi	Jumlah Bakteri Yang Hidup	Persentase (%)	Jumlah Bakteri Yang Mati	Persentase (%)	Total Sampel	Total Persentase (%)
8 Volt 10 Menit	6	25	0	0	6	25
8 Volt 5 Menit	6	25	0	0	6	25
10 Volt 10 Menit	6	25	0	0	6	25
10 Volt 5 Menit	4	16,7	2	8,3	6	25
Total	22	91,7	2	8,3	24	100

$$\text{Jumlah Bakteri Yang Hidup (\%)} = \frac{\text{Total Sampel Jumlah Bakteri Hidup}}{\text{Total Seluruh Sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{22}{24} \times 100\% = 91,7\%$$

$$\text{Jumlah Bakteri yang Mati (\%)} = \frac{\text{Total Sampel Jumlah Bakteri Mati}}{\text{Total Seluruh Sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{2}{24} \times 100\% = 8,3\%$$

Setelah dilakukan perlakuan eektrosterilisasi 10 Volt selama 10 Menit, didapatkan jumlah bakteri yang mati dengan rumus berikut :

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Bakteri yang mati (\%)} &= \frac{\text{Total Sampel Jumlah Bakteri Mati}}{\text{Total Seluruh Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{2}{24} \times 100\% = 8,3\% \end{aligned}$$

Tabel 4. Hasil Penelitian

Nomor	Tujuan Penelitian	Hasil Penelitian
1	Mengetahui persentase jumlah bakteri mati setelah proses elektrosterilisasi	Berdasarkan analisis data univariat distribusi Frekuensi perlakuan elektrosterilisasi media biakan <i>Nutrient Broth</i> didapat jumlah persentase 8,30%
2	Efektivitas dan efisiensi metode elektrosterilisasi dalam sterilisasi media biakan <i>Nutrient Broth</i>	Berdasarkan analisis data bivariat uji anova diketahui efektivitas dan efisiensi elektrosterilisasi terhadap 24 sampel terjadi pada 10 Volt selama 10 menit
3	Mengetahui fungsi media biakan yang telah diberi perlakuan elektrosterilisasi	Berdasarkan analisis data bivariat uji korelasi diketahui media biakan yang telah diberi perlakuan elektrosterilisasi masih berfungsi sebagai media biakan kuman

Dari hasil penelitian sterilisasi dengan menerapkan metoda elektrosterilisasi pada media *nutrient broth*, di mana voltase yang digunakan sebesar 10 volt dengan waktu kontak selama 10 menit memberikan hasil sebagian kecil (2 dari 6 pengulangan) tidak adanya pertumbuhan koloni kuman pada media TPC pada uji angka kuman. Tidak adanya pertumbuhan koloni kuman ini disebabkan karena adanya kematian sel kuman disebabkan karena terhambatnya proses pernapasan sel bakteri.

Peneliti lain melaporkan bahwa mengalirnya arus listrik melalui suspensi sel mikroba menyebabkan penghambatan pernapasan sel, pernapasan sel yang terhambat ini mengakibatkan terganggunya proses pembelahan sel sehingga menghasilkan kematian sel mikroba. Pengaruh elektron yang dihasilkan dari proses elektrosterilisasi adalah mengoksidasi CoA pada dinding sel kuman menjadi dimer CoA, yang berakibat tidak adanya

transfer elektron pada saat reaksi reduksi oksidasi selama siklus Krebs berlangsung Hal ini dbuktikan dengan mengukur kadar CoA dan kadar dimer CoA secara enzimatik dalam sample percobaan yang diberi perlakuan elektrosterilisasi, yang hasilnya terdapat kenaikan kadar dimer Coa dan meurunnya kadar CoA dari sample yang dilakukan elektrosterilisasi [9].

Pada hasil inkubasi media *nutrient broth* yang diberi perlakuan elektrosterilisasi 10 Volt selama 5 menit, 10 menit dan 8 Volt selama 5 dan 10 menit masih memberikan hasil kekeruhan setelah diinkubasi yang menandakan bahwa media tidak steril. Hal ini disebabkan karena selama proses elektrosterilisasi, udara di atas permukaan larutan media perbenihan yang disteriliasi masih bisa mengkontaminasi media perbenihan, dimana udara tersebut masih mengandung bakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis data univariat dengan menggunakan distribusi frekuensi didapatkan total jumlah sampel yang mengandung bakteri hidup yaitu 22 sampel (91,7%), sedangkan total jumlah sampel yang mengandung bakteri mati yaitu 2 sampel (8,3%). Untuk perlakuan 10 volt dengan waktu kontak 10 menit jumlah sampel yang mengandung bakteri mati yaitu 2 sampel (8,3%). Berdasarkan hasil analisis data bivariat dengan menggunakan uji anova, disimpulkan bahwa elektrosterilisasi paling efektif dan efisien dilakukan pada 10 volt selama 10 menit.

Berdasarkan analisis data menggunakan uji korelasi yang menghubungkan antara potensial listrik

dan waktu kontak terhadap media perbenihan *Nutrient Broth*, disimpulkan bahwa hubungan keamatan sangat kuat dan berpola negatif. Artinya semakin besar paparan voltase dan semakin lama waktu pemaparan semakin menurunkan jumlah angka kuman. Hal ini menunjukkan media perbenihan yang telah diberi perlakuan elektrolisis masih berfungsi sebagai media perbenihan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis berterimakasih kepada Poltekkes Tanjungkarang Jurusan Analis Kesehatan yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan penulisan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pelczar, M.J; and E.C.S.Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Jakarta: UI-press.
- [2] Benson, H.J. 2002. *Microbiological applications: Laboratory manual in general microbiology*. Eighth Edition. McGraw Hill: New York.
- [3] Cappuccino, J.G., Sherman, N. 2004. *Microbiology: A laboratory manual, 6th addition*, Pearson education (Singapore) Pvt. Ltd, Indian branch, 482 FIE Patparganj, New Delhi, 143 153, 154 156, 167, 181 185.
- [4] Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Surabaya: Penerbit Djambatan.
- [5] Okochi, M., and T. Matsunaga. 1997. Electrochemical Sterilization of Bacteria Using a Graphite Electrode Modified With Adsorbed Feerocene. *Electrochemical Acta*, Vol. 42, Nos 20-22. 3247-3250.
- [6] Nanayakkara, K.G. N., Yu-Ming Z., J. Paul C. 2008. *Development and Optimalization of A highly Effective and Low Energy Intensive Electro-Disinfection System for Ballast Water Treatment*. Article.
- [7] Cotillas, S, Javier. L , Pablo Can˜ izares, S. Mateo, and M. A. Rodrigo. 2013. Optimization of an integrated electrodisinfection/ electrocoagulation process with Al bipolar electrodes for urban wastewater reclamation. *water research*, 47, 1741-1750.

- [8] Jeong, J., J.Y. Kim., M. Cho., W. Choi, J. Yoon. 2007. Inactivation of *Escherichia coli* in the Electrochemical Disinfection Process Using a Pt Anoda. *Chemosphere*. 67, 652-659.
- [9] Matsunaga T., Y. Namba., T. Nakajima. 1985. Electrochemical Sterilization of Microbial Cells. *A Section of J. Electroanal. Chem., and Constituting Vol. 174. Bioelectrochemistry and Bioenergetic*, 13. 393-400.