

- d) pasteurisasi, untuk mensterilkan susu dan minuman beralkohol dengan suhu $61,7^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit.
- b. Filtrasi, untuk mensterilkan media yang tidak tahan terhadap pemanasan. Kelemahannya golongan virus mampu menembus filter sterilisasi.
- c. Penyinaran dengan menggunakan radiasi/sinar gelombang pendek. Beberapa radiasi mengakibatkan letal terhadap sel-sel jasad renik dan mikroorganisme. Macam-macam sinar gelombang yang umum digunakan untuk sterilisasi adalah sinar x, sinar uv dan sinar gamma.
- d. Khemis, yaitu sterilisasi dengan menggunakan bahan kimia. Bahan kimia yang sering digunakan untuk mencegah atau membunuh mikrobia adalah desinfektan dan antiseptik. Desinfektan biasanya digunakan untuk objek yang tidak hidup karena akan merusak jaringan, sedangkan antiseptik biasanya digunakan untuk tubuh. Beberapa zat kimia yang bersifat antimikroba adalah fenol dan derivatnya, alkohol, halogen, detergen, aldehid dan gas etilen oksida.

13. Pengukuran aktivitas antibiotik

Pengukuran aktivitas antibiotik dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu:

a. Metode dilusi

Metode ini menggunakan antibiotik dengan kadar menurun secara bertahap, baik dengan media cair (dilusi cair) atau media padat (dilusi padat). Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi antibiotik atau sampel ditambah suspensi kuman dalam media, sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat atau sampel dicampur dengan media Agar, lalu ditanami kuman

b. Metode difusi

Metode ini paling sering digunakan. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Pada metode difusi ini ada beberapa cara yaitu :

1) Cara Kirby Bauer

- a) Diambil beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada Agar, disuspensikan kedalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasi 5-8 jam pada suhu 37°C.
- b) Suspensi diatas ditambahkan aquades steril hingga kekeruhan tertentu dengan standar konsentrasi kuman 10^8 CFU per ml. (CFU = *Coloni Forming Unit*)
- c) Kapas lidi steril dicelupkan kedalam suspensi kuman lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak

3) Cara *pour plate*

- a) dan b) sama dengan cara Kirby Bauer c) Dengan digunakan ose khusus, diambil satu ose dan dimasukkan dalam 4 ml Agar base 1,5 % yang mempunyai suhu 50°C (diambil dari *waterbath*).
- d) Setelah suspensi kuman tersebut dibuat homogen, dituang pada media Agar.
- e) Ditunggu sebentar sampai Agar tersebut membeku, letakkanlah disk antibiotik.
- f) Dieramkan 15-20 jam pada suhu 37°C.
- g) Dibaca disesuaikan dengan standar masing-masing antibiotik (Anonim, 1993).

14. Limbah

Limbah adalah kotoran dari masyarakat, rumah tangga dan juga yang berasal dari industri, air tanah, air permukaan serta buangan lainnya. Dengan demikian air buangan ini merupakan hal yang bersifat kotoran umum (Sugiharto, 1987). Sesuai dengan sumber asalnya, maka air limbah mempunyai komposisi yang sangat bervariasi dari setiap tempat. Akan tetapi secara garis besar zat-zat yang terdapat di dalam air limbah dapat dikelompokkan seperti berikut:

- a. Air
- b. Bahan padat
 - 1) organik; protein, karbohidrat, lemak

BAB III METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan-bahan penelitian yang digunakan adalah limbah cair dari *septic tank* rumah sakit Dr. Sardjito, NaCl fisiologis, disk antibiotik standar (Oxoid), media Mc. Conkey (Oxoid), media Klingler Iron Agar/KIA (Oxoid), media Semi Solid Sucrose/SSS (BBL), media Lysine Iron Agar/LIA (Oxoid), media Motility Indol Ornithine/MIO (Difco), Manitol Salt Agar/MSA (Oxoid), media Mueller Hinton Agar (Oxoid), Brain Heart Infusion/BHI (Oxoid), reagen covacs dan alkohol 70 %. Apabila tidak disebutkan lain maka bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah berderajat pro analisa.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, inkubator, seperangkat alat gelas (Pyrex), lampu spiritus, pipet ukur (Pyrex), mikropipet, pipet tetes, dan ose bulat.

Jika ada pertumbuhan bakteri maka dilakukan identifikasi bakteri dengan uji biokimia. Koloni yang dicurigai ditanam pada media KIA, LIA, SSS dan MIO kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C, pada media MIO dilakukan tes indol dengan meneteskan reagen covacs sedikit demi sedikit melalui dinding tabung reaksi MIO hingga terbentuk garis pemisah, positif jika terbentuk garis pemisah berwarna merah. Hasil dicocokkan dengan tabel identifikasi Enterobacteriaceae dengan uji biokimia.

4. Uji sensitivitas bakteri

Metode yang digunakan adalah metode difusi cara Kirby Bauer. Diambil koloni kuman dari media Agar Mc. Conkey, disuspensikan kedalam 0,5 ml media BHI cair, diinkubasi 4 jam pada suhu 37°C. NaCl fisiologis ditambahkan hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi kuman 10^8 CFU/ml. Dari kuman 10^8 CFU/ml diambil 0,1 ml dan ditambahkan NaCl fisiologis hingga 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi kuman 10^6 CFU/ml (pengenceran 100x). Kapas lidi steril dicelupkan kedalam suspensi kuman tersebut lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media Mueller Hinton Agar hingga rata. Kemudian disk antibiotik standar dipasang diatas permukaan Agar, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter hambatan diukur untuk masing-masing antibiotik.