

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Serratia marcescens*

Serratia marcescens (*Ser. marcescens*) adalah bakteri gram negatif dari family Enterobacteriaceae dan termasuk flora normal pada usus manusia. Bakteri ini dapat hidup di air, tanah, permukaan daun, dalam tubuh serangga, hewan, dan manusia (Khanafari *et al.*, 2006). Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob sehingga mampu hidup pada keadaan yang sangat ekstrim, seperti pada lingkungan yang terpapar antiseptik, desinfektan, dan air destilasi, selain itu bakteri ini juga dapat hidup dalam kisaran suhu 5°C - 40°C dan dalam kisaran pH antara 5-9 (Saputra, 2010).

Bakteri *Ser. marcescens* memiliki bentuk sel batang atau bacillus dan beberapa galur membentuk kapsul, memiliki ukuran koloni sangat kecil hingga 2 mm. Bakteri ini bersifat motil karena memiliki flagel peritrik yang digunakan sebagai alat gerak dan flagel tersebut ditemukan pada seluruh sel bakteri. Secara makroskopis bakteri ini membentuk koloni cembung, lembut, dengan tepi yang berbeda, dan dapat menghasilkan pigmen merah seperti yang terlihat pada gambar 1 (Rosidah, 2016). Bakteri ini menghasilkan pigmen merah yang merupakan metabolit sekunder yang dikenal sebagai prodigiosin dari family *tripyrrole* yang umumnya mengandung *4-methox-2,2-bipyrolle* (Giri *et al.*, 2004). Berdasarkan penelitian, pigmen biologis yang dihasilkan oleh bakteri ini ternyata memiliki aktivitas antifungal, immunosupresi dan antiproliferasi (Lauzon *et al.*, 2003).



Gambar 1. *Serratia marcescens* (Rosidah, 2016)

Produksi prodigiosin dipengaruhi oleh komposisi media, waktu inkubasi dan suhu terutama pada suhu ruang. Media cair yang sudah banyak digunakan untuk produksi prodigiosin adalah *Nutrient Broth* (NB), *peptone glycerol broth* dan *Luria-Bertani* (LB) *broth* dengan penambahan sodium oleat 2%, asam oleat dan triolein ke dalam media dapat menghasilkan prodigiosin sebanyak 0,69 mg/ml dan media yang mengandung etanol sebagai sumber karbon juga sangat baik untuk produksi prodigiosin (Chang *et al.*, 2000), sedangkan maltose dan glukosa merupakan repressor (penghambat) biosintesis prodigiosin. Menurut Khanafari (2006), penambahan Fe_2^+ ke dalam media biakan *Ser. marcescens* dapat menghasilkan pigmen merah di sekitar koloni. Begitu pula dengan Ca_2^+ yang juga dapat meningkatkan produksi prodigiosin (Casullo *et al.*, 2010).

2.1.1. Klasifikasi *Serratia marcescens*

Klasifikasi *Serratia marcescens* sebagai berikut (Rosidah, 2016) :

Kingdom	: <i>Bakteri</i>
Phylum	: <i>Proteobakteri</i>
Class	: <i>Gamma proteobakteri</i>
Marga	: <i>Enterobacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Serratia</i>
Spesies	: <i>Serratia marcescens</i>

2.1.2. Patogenitas *Serratia marcescens*

Bakteri *Ser. marcescens* termasuk bakteri yang memiliki peran besar dalam penyebab terjadinya infeksi nosokomial yang didapatkan dari kontak langsung antara petugas medis dengan seorang pasien ketika petugas medis tersebut sudah terkontaminasi dengan bakteri ini yang disebabkan oleh faktor terkontaminasinya tangan petugas dengan lingkungan (Darmadi, 2008). Organisme ini mampu menyebabkan infeksi nosokomial pada tubuh terutama infeksi saluran pernapasan dan saluran kemih, meningitis, bakteremia dan berbagai jenis luka (Ochieng *et al*, 2014). *Serratia marcescens* adalah bakteri enterik yang umumnya dianggap tidak patogen dalam saluran pencernaan, namun berdasarkan penelitian Ochieng (2014) melaporkan bahwa bakteri *Serratia marcescens* juga dapat menyebabkan diare pada anak-anak. Bakteri ini menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada diluar usus.

Bakteri *Ser. marcescens* diakui sebagai bakteri oportunistik dan tahan terhadap antibiotik, sehingga bakteri ini dianggap spesies berbahaya karena termasuk organisme saprofit. Bakteri tersebut tahan terhadap berbagai antibiotik, seperti penisilin, sefalosporin, cefuroxime, cephamycins, makrolid, tetrasiklin, nitrofurantoin dan colistin (Stock, 2003).

2.2. Teknologi Ozon

Pada tahun 1840 ozon pertama kali ditemukan oleh C F Schonbein. Soret pada tahun 1867 mengumumkan bahwa ozon adalah sebuah molekul gas yang terdiri tiga buah atom oksigen. Penamaan ozon diambil dari bahasa Yunani OZEIN yang berarti *smell* atau bau. Ozon dikenal sebagai gas yang tidak

memiliki warna. (Rahma, 2012).

Ozon (O_3) adalah komponen udara segar yang terjadi secara alami, terbentuk sebagai hasil reaksi antara sinar ultraviolet dari matahari dengan lapisan atas atmosfer bumi, dan membentuk lapisan pelindung yang menyelimuti bumi. Ozon sendiri adalah jenis gas yang sangat reaktif dan tidak stabil, dengan masa hidup yang sangat pendek (20-30 menit) sebelum kembali menjadi oksigen (Widowati, 2010).

Beberapa sifat dari ozon dilaporkan oleh Parkes (1903) di antaranya adalah berbau tidak enak (seperti bau belerang). Apabila kita menghirup udara yang mengandung ozon terlalu lama, akan mengakibatkan sakit kepala, tapi kalau hanya sebentar dapat menyegarkan. Ozon mengandung gugus oksidasi yang sangat kuat, bahkan dapat merusak karet dan gabus. Ozon juga bersifat bakterisida, virusida, algisida, dan fungisida (Utari, 2016).

Pada lapisan atmosfer bumi, ozon dapat terjadi karena pengaruh sinar ultraviolet terhadap oksigen di udara. Di laut, percikan air garam ke udara dan pada waktu penguapan air laut ke udara juga menghasilkan ozon (Utari, 2016). Pada keadaan paling stabil, atom oksigen berada dalam bentuk diatomic molekul O_2 atau yang sering disebut dengan oksigen. Molekul ozon mengandung tiga atom oksigen dan lebih tidak stabil jika dibandingkan dengan molekul oksigen (Yusuf *et al*, 2008).

Ozon adalah oksidator kuat yang bereaksi dengan cepat, hampir semua zat organik dapat bereaksi, kecuali ion klorida karena tidak bereaksi dengan ozon dan amonia yang sedikit bereaksi dengan ozon. Sifat ozon yang bereaksi dengan

cepat hingga di dalam air ozon hanya sebentar saja (Sulistyardari, 2009).

Residu ozon bersifat racun terhadap kehidupan dalam air, namun ozon mudah terurai, sehingga pada proses pengaliran air residu ozon sudah menghilang sehingga tidak berbahaya bagi makhluk yang menggunakannya. Pada proses ozonisasi memang ada kemungkinan terjadinya pembentukan senyawa yang bersifat racun mutagenik atau karsinogenik, tetapi karena tidak stabil hanya bertahan beberapa menit saja, sehingga pada waktu sampai di konsumen senyawa ozon sudah tidak ditemukan lagi (Rusdi & Suliasih, 2002).

Ozon telah dimanfaatkan untuk mengontrol rasa dan bau, menghilangkan warna, menguraikan senyawa organik, dan mendisinfeksi mikroorganisme patogen pada air dan udara. Efek oksidasi ozon yang kuat ini telah diamati dalam berbagai macam reaksi bahkan sebelum rumus molekul ozon itu sendiri ditemukan. Efek pemutih oleh ozon dimanfaatkan secara komersial dalam pengolahan gula dan pemutihan kain linen. Pada tahun 1868, ozon digunakan untuk mengkonversi campuran batubara-minyak menjadi produk yang dapat dimanfaatkan sebagai cat, pernis, dan pewarna pakaian. Pada tahun 1870 dipatenkan suatu peralatan penghasil ozon yang dapat menghilangkan bau saluran pembuangan (Zhafira, 2012).

Hingga tahun 1904, ozon telah dimanfaatkan untuk pengawetan susu, produk daging, gelatin, kasein, dan albumin. Ozon juga telah dimanfaatkan sebagai disinfektan selektif dalam pembuatan bir dan sari buah apel. Pada bidang kedokteran gigi, ozon digunakan untuk menjaga agar mulut yang sedang dioperasi tetap steril. Pada terapi medis, ozon digunakan untuk mengobati kanker

(menggabungkan ozon dengan terapi radiasi), dan dalam terapi oksidasi (menginjeksi campuran ozon dan oksigen ke dalam aliran darah) (Zhafira, 2012).

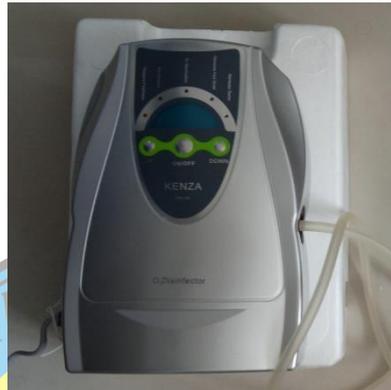
Proses ozonisasi atau proses dengan menggunakan ozon pertama kali diperkenalkan Nies dari Prancis sebagai metode sterilisasi pada air minum pada tahun 1906. Penggunaan proses ozonisasi kemudian berkembang sangat pesat. Dalam kurun waktu kurang dari 20 tahun terdapat kurang lebih 300 lokasi pengolahan air minum menggunakan ozonisasi untuk proses sterilisasinya di Amerika. Untuk pertama kali penggunaan ozon dalam proses pengolahan air dalam skala besar, diperkenalkan oleh Marius Paul Otto pada tahun 1907 di Nice Perancis. Pada pengolahan pertama berhasil memproduksi air olahan 22500 m³ per hari dengan dosis pemakaian ozon 0,9 g per m³. Proses pengolahan ini berhasil menghilangkan warna dan bakteri pathogen tanpa meninggalkan bau dan rasa (Utari, 2016).

Metode ozonisasi mulai banyak dipergunakan untuk sterilisasi bahan makanan, pencucian peralatan kedokteran, hingga sterilisasi udara pada ruangan kerja di perkantoran. Luasnya penggunaan ozon ini tidak terlepas dari sifat ozon yang dikenal memiliki sifat radikal (mudah bereaksi dengan senyawa disekitarnya) serta memiliki oksidasi potensial 2.07 V. Selain itu, ozon telah dapat dengan mudah dibuat dengan menggunakan plasma seperti corona discharge (Utari, 2016).

2.2.1. Pembuatan ozon

Ozon dapat dibuat di dalam alat yang dinamakan *Ozoniser*. *Ozoniser* 400mg/h adalah suatu unit alat yang menggunakan arus listrik 220 v dan

konsumsi daya 15 watt, mengubah O_2 yang bersih dan kering menjadi Ozon (O_3) jumlah ozon yang dihasilkan ozoniser sebanyak 500 mg/jam. Cara pembuatan ozon tersebut dapat dilakukan dengan melewati udara kering yang telah difilter melalui tabung-tabung (Sulistiyandari, 2009).



Gambar 2. Alat pemurni ozon Kenza KZO-303.

Ada beberapa cara pembuatan ozon diantaranya:

- a. Pembuatan ozon melalui proses tumbukan

Ozon dapat dibuat dengan cara melewati gas oksigen (O_2) pada daerah yang dikenai tegangan yang tinggi. Molekul oksigen (O_2) yang dikenai tegangan tinggi ini akan mengalami ionisasi yaitu proses terlepasnya suatu atom atau molekul dari ikatannya menjadi ion-ion oksigen. Molekul-molekul oksigen (O_2) yang terionisasi ini biasa disebut dalam kondisi plasma. Plasma adalah partikel gas bermuatan atau biasa yang disebut dengan ion yang terdiri dari ion positif, ion negatif, elektron dan radikal bebas. Plasma juga biasa disebut dengan fase keempat setelah padat, cair dan gas. Jenis-jenis dari ion oksigen adalah O^+ , O_2^+ , O^- , O_2^- dan O_3^- . Kombinasi dari kesemuanya dapat menghasilkan ozon (Yusuf *et al*, 2008).

b. Pembentukan ozon melalui proses penyerapan cahaya

Ozon dapat menyerap radiasi sinar ultraviolet dengan panjang gelombang antara 240 nm sampai 290 nm, sedangkan gas oksigen (O_2) dapat menyerap radiasi sinar ultraviolet dengan panjang gelombang kurang dari 240 nm. Apabila gas oksigen menyerap radiasi sinar ultraviolet dengan panjang gelombang kurang dari 240 nm, maka gas oksigen (O_2) tersebut akan terurai menjadi dua atom oksigen (Yusuf *et al*, 2008).



Atom oksigen hasil reaksi tersebut sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan O_2 dan membentuk ozon (O_3).



Reaksi ini bersifat eksotermik, dan akibat dari kedua reaksi tersebut adalah perubahan tiga molekul oksigen (O_2) menjadi dua molekul ozon (O_3) dan konversi radiasi sinar ultraviolet menjadi panas. Ozon (O_3) menyerap radiasi sinar ultraviolet dengan panjang gelombang antara 240 sampai 290 nanometer. Reaksi tersebut menyebabkan ozon (O_3) mengalami perubahan komposisi menjadi gas oksigen dan atom oksigen (Yusuf *et al*, 2008).

2.2.2. Desinfeksi

Salah satu cara untuk mengendalikan mikroorganisme adalah dengan melakukan desinfeksi. Desinfeksi adalah proses menghancurkan sel-sel vegetatif penyebab infeksi namun tidak selalu mematikan spora. Desinfeksi dilakukan dengan menggunakan desinfektan. Desinfektan yang dimaksud adalah suatu bahan yang biasanya adalah zat kimia yang mematikan sel vegetatif tetapi belum

tentu mematikan bentuk-bentuk spora mikroorganisme penyebab penyakit (Sunarko, 2012).

Beberapa cara yang biasa dilakukan dalam desinfeksi bakteri pathogen adalah dengan cara kimia yaitu dengan menambahkan bahan kimia, cara fisik yaitu dengan proses pemanasan atau penyinaran dan cara mekanis yaitu dengan sistem filtrasi (Anggraeni, 2012).

Beberapa jenis desinfektan yang biasa digunakan untuk mendesinfeksi bakteri terhadap air yaitu ozon, ultra violet, chlorin dan senyawanya, kalium permanganat, iodine dan bromine, ferrate dan hidrogen peroksida (Anggraeni, 2012).

2.2.3. Ozon Sebagai Desinfektan

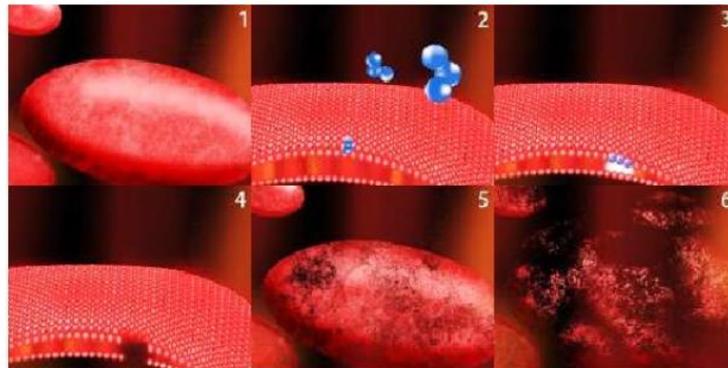
Ozon telah lama dikenal sebagai disinfektan yang efektif untuk membunuh bakteri. Kemampuan ozon sebagai disinfektan jauh lebih kuat daripada klorin, dan bekerja 3.000 kali lebih cepat tanpa menghasilkan produk dekomposisi yang berbahaya. Efektivitas proses ozonasi untuk disinfeksi bergantung pada seberapa rentan mikroba tersebut terhadap ozon, waktu kontak antara mikroba dengan ozon, dan konsentrasi (dosis) ozon (Zhafira, 2012).

Ozon merupakan disinfektan yang biasanya digunakan oleh industri untuk proses menghilangkan warna, menghilangkan bau, dan untuk memproduksi perubahan struktur senyawa organik. Ozon pada konsentrasi 0,3 mg/L sampai dengan 0,9 mg/L dapat digunakan untuk membunuh *E. coli*, *Vibrio*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, dan *Listeria* serta dapat digunakan untuk membunuh virus (Wulansarie, 2012).

2.2.4. Mekanisme Ozon Sebagai Desinfektan

Desinfeksi bakteri menggunakan ozon terjadi melalui proses oksidasi langsung, oksidasi ozon dapat merusak membran sel, dinding bagian luar sel bakteri sehingga dapat membunuhnya. Ketika ozon kontak langsung dengan bakteri, satu atom oksigen akan melepaskan diri dan mengoksidasi pelindung protein bagian luar yaitu phospholipid dan lipoprotein dari bakteri tersebut, kemudian atom oksigen yang lain akan berubah menjadi gas oksigen, sehingga bakteri dapat dihancurkan akibat adanya kebocoran pada sitoplasma (Adji *et al*, 2007).

Mekanisme ozon untuk menghancurkan sel bakteri dapat dijelaskan oleh ilustrasi gambar 2 yang terdiri dari tahap-tahap 1) Sel bakteri normal dalam keadaan utuh, 2) tampak molekul ozon (berwarna biru) mendekat dan terjadi kontak dengan dinding/membran sel. Dinding sel merupakan komponen vital bakteri karena komponen yang ini yang membuat organisme tersebut dapat mempertahankan bentuknya, 3) ketika molekul ozon kontak dengan dinding sel, suatu reaksi oksidasi terjadi dan menyebabkan lubang pada dinding sel, 4) lubang yang terbentuk penyebab kerusakan pada bakteri, 5) molekul ozon terus membentuk lubang pada dinding sel, sehingga bakteri mulai kehilangan bentuknya, 6) setelah kontak dengan ribuan molekul ozon dalam waktu yang relatif singkat, dinding bakteri tidak mampu mempertahankan bentuknya dan sel bakteri pun mati (Zahroh, 2012).



Gambar 3. Mekanisme penghancuran sel bakteri oleh ozon (Zahroh, 2012)

2.2.5. Faktor Yang Mempengaruhi Desinfeksi Ozon

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi desinfeksi ozon diantaranya :

- a. Suhu sampel/air, suhu mempengaruhi keberadaan ozon dalam air, pada suhu tinggi ketahanan dan keberadaan ozon dalam air akan berkurang (Sari *et al*, 2013).
- b. pH sampel/air, dimana pH ada 3 kondisi yaitu asam, netral dan basa sangat mempengaruhi desinfeksi ozon, pH asam konsentrasi sisa ozon yang tertinggal cukup tinggi dibandingkan dengan pH netral, namun pada pH basa konsentrasi sisa ozon yang tertinggal sangat rendah dibandingkan pH asam dan netral (Sari *et al*, 2013).
- c. Waktu paparan ozon, makin lama waktu pemaparan ozon terhadap sampel maka semakin efektif membunuh bakteri (Wulansarie, 2012).

2.2.6. Kelebihan dan kekurangan ozon

Menurut Solomon (1998) ozon sebagai disinfektan memiliki banyak kelebihan yaitu lebih efektif dalam membasmi virus dan bakteri dibandingkan dengan klorin, waktu kontak yang dibutuhkan relatif singkat (sekitar 10-30

menit), proses ozonasi meningkatkan konsentrasi oksigen terlarut, tidak menghasilkan zat sisa yang harus ditangani lebih lanjut karena ozon cepat terdekomposisi, relatif aman karena ozon digenerasi secara insitu, mikroorganisme tidak tumbuh kembali setelah ozonasi kecuali yang terlindungi oleh partikulat di dalam sampel (Zhafira, 2012).

Namun ozon juga memiliki beberapa kekurangan, antara lain tidak efektif membunuh beberapa jenis kuman, bakteri, dan spora jika digunakan dalam dosis rendah, proses desinfeksi dengan ozon lebih kompleks daripada desinfeksi dengan menggunakan klorin atau radiasi UV sehingga membutuhkan peralatan yang canggih dan waktu kontak yang efisien, sangat reaktif dan korosif sehingga membutuhkan material yang tahan terhadap korosi, membutuhkan biaya investasi dan perawatan yang relatif tinggi, tidak ada residu yang dapat diukur untuk menunjukkan kemampuan disinfeksi (Zhafira, 2012).

2.3. Metode TPC (*Total Plate Count*)/ Perhitungan Jumlah Bakteri

Pertumbuhan mikroorganisme yang membentuk koloni dapat dianggap bahwa setiap koloni yang tumbuh berasal dari satu sel, maka dengan menghitung jumlah koloni dapat diketahui penyebaran bakteri yang ada pada bahan. Jumlah mikroba pada suatu bahan dapat dihitung dengan berbagai macam cara, tergantung pada bahan dan jenis mikrobanya (Anggraeni, 2012).

Metode penghitungan sel mikroorganisme di bagi menjadi 2 yaitu :

- a. Secara tidak langsung yaitu jumlah mikroba dihitung secara keseluruhan baik yang mati atau yang hidup atau hanya untuk menentukan jumlah mikroba yang hidup saja dengan menggunakan Total Plate Count.

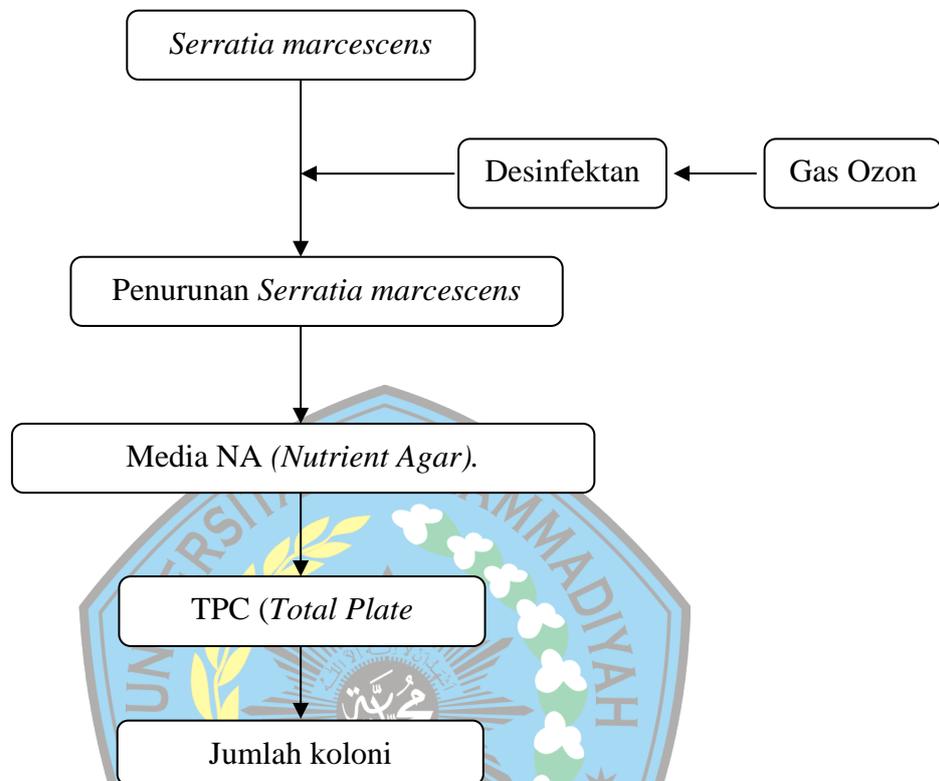
- b. Secara langsung yaitu jumlah mikroba dihitung secara keseluruhan, baik yang mati atau yang hidup dengan alat Haemocytometer.

Salah satu cara untuk mendeteksi atau menganalisis jumlah mikroba yaitu dengan cara uji TPC (*Total Plate Count*) di laboratorium. Pengujian *Total Plate Count* (TPC) dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar (Yunita *et al*, 2015).

Metode TPC (*Total Plate Count*) dibedakan atas dua cara, yakni metode tuang (*pour plate*), dan metode permukaan (*surface/spread plate*). Pada metode tuang, sejumlah sampel (1 ml atau 0,1 ml) dari pengenceran yang dikehendaki dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambah agar-agar cair steril yang didinginkan (47-50°C) sebanyak 15-20 ml dan digoyangkan supaya sampelnya menyebar. Pada pemupukan dengan metode permukaan, terlebih dahulu dibuat agar cawan kemudian sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan dipipet pada permukaan media agar-agar tersebut. Kemudian diratakan dengan batang gelas melengkung yang steril selanjutnya diinkubasi 37°C selama 2 x 24 jam (Anggraeni, 2012). Jumlah koloni dalam sampel dapat dihitung sebagai berikut.

$$\text{Koloni/ml} = \text{jumlah koloni percawan} \frac{1}{\text{faktor pengencer}} \quad (\text{Rosidah, 2016}).$$

2.4. Kerangka teori

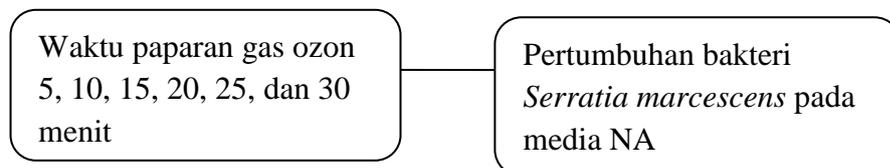


Gambar 4. Kerangka teori

2.5. Kerangka konsep

Variabel bebas

Variabel terikat



Gambar 5. Kerangka konsep