Jurnal Masker Medika
e-ISSN : 2654-8658
p -ISSN :2301-8631

Volume 11, Nomor 2. Desember 2023
http://jmm.ikestmp.ac.id
10.52523/maskermedika.v11i2.563

PENGARUH DIMETIL SULFOKSIDA (DMSO) DAN SUHU PRESERVASI BERBEDA TERHADAP BAKTERI *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Effect of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) and Different Preservation Temperatures on Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Bacteria

Chintia Agustina[1*], Kurniawan[2], Ikhsan Mujahid[3***], Kurnia Ritma Dhanti[4****]**
****Program Studi Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Korespodendi Email : kurniawan@ump.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan: Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi nosokomial di rumah sakit yang mudah mengalami resistensi terhadap antibiotik membentuk strain baru seperti bakteri MRSA yang resisten terhadap golongan antibiotik *methicillin (β-lactams)*. Bakteri MRSA bersifat patogen dan memiliki persentase bahaya yang cukup besar sehingga perlu dilakukan pemeliharaan dan penyimpanan kultur murni bakteri MRSA di laboratorium untuk kepentingan eksplorasi dan upaya pengendalian serta pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut. Salah satu larutan yang digunakan dalam preservasi bakteri adalah larutan dimetil sulfoksida (DMSO) yang berguna secara universal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh larutan DMSO dan suhu preservasi yang berbeda dalam preservasi bakteri MRSA. **Metode:** Penelitian ini termasuk penelitian kuantitatif dengan analisis uji multivariat anova yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Universitas Muhammadiyah Purwokerto dari bulan Juli 2022 sampai bulan Oktober 2022. **Hasil:** Konsentrasi larutan DMSO dan suhu preservasi yang berbeda dapat mempengaruhi viabilitas bakteri MRSA, sedangkan suhu preservasi bakteri MRSA yang paling baik adalah pada suhu 4 ^{o}C dan 20-28 ^{o}C dengan nilai signifikansi (p=0.048). **Diskusi:** Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa konsentrasi larutan DMSO yang tinggi dan suhu preservasi yang berbeda dapat mempengaruhi viabilitas bakteri MRSA. Suhu preservasi yang terbaik diperoleh pada suhu 4 ^{o}C.

Kata kunci: DMSO, MRSA, Preservasi Bakteri, Suhu

ABSTRACT

Introduction: *S. aureus bacteria are bacteria that cause nosocomial infections in hospitals and that easily develop resistance to antibiotics, forming new strains such as MRSA bacteria that are resistant to the class of antibiotics methicillin (β-lactams). MRSA bacteria are pathogenic and carry a significant proportion of hazards, so it is necessary to maintain and store pure cultures of MRSA bacteria in the laboratory for the purposes of exploration and efforts to control and treat infectious diseases caused by these bacteria. One of the solutions used in bacterial preservation is dimethyl sulfoxide (DMSO) solution, which is universally used. This study aimed to determine the effect of DMSO solution and different temperatures on the preservation of MRSA bacteria.* ***Methods:*** *This study was a quantitative study using multivariate ANOVA test analysis conducted at the Microbiology and Biochemistry Laboratory, Biology Education Study Program, Teaching and Education Faculty (FKIP), Muhammadiyah University, Purwokerto, from July 2022 to October 2022.* ***Results:*** *DMSO solution concentration and temperature Different preservatives can affect the viability of MRSA bacteria, while the best temperature for preserving MRSA bacteria is between 4 ^{o}C and 20-28 ^{o}C with a significance value (p=0.048).* ***Discussion****: The research results show that the high concentration of DMSO solution and different preservation temperatures can affect the viability of MRSA bacteria. The best temperature preservation was obtained at 4 ^{o}C.*

Keywords: *Bacterial preservation, DMSO, MRSA, Temperature*

https://doi.org/10.52523/maskermedika.v11i2.563
Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-SA 4.0)

Jurnal Masker Medika
e-ISSN : 2654-8658
p -ISSN :2301-8631
Volume 11, Nomor 2. Desember 2023
http://jmm.ikestmp.ac.id
10.52523/maskermedika.v11i2.563

PENDAHULUAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan bakteri penyebab infeksi nosokomial di rumah sakit dengan bentuk sel bulat, Gram-positif dengan konformasi seperti buah anggur. Bakteri ini banyak ditemukan pada saluran pernafasan (30%) dan juga permukaan kulit (20%) dari pasien atau tenaga medis yang bekerja di rumah sakit (Nismawati *et al*., 2018).

Bakteri *S. aureus* termasuk salah satu spesies bakteri yang mudah mengalami resistensi terhadap antibiotik. Berdasarkan tingkat sensitifitasnya terhadap antibiotik dari golongan β-laktam, bakteri ini dapat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu bakteri MRSA atau *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* dan bakteri MSSA atau *Methicillin-Sensitive Staphylococcus aureus* (Oktavian *et al*., 2020). Strain bakteri MRSA menunjukkan fitur mikrobiologis, terapeutik dan klinis yang berbeda jika dibandingkan dengan kelompok bakteri lainnya yang sensitif terhadap antibiotik *methicillin* (Kurniawan *et al*., 2021)

MRSA merupakan kelompok bakteri *S. aureus* yang sudah resisten (tahan) terhadap golongan antibiotik *isoxazoyl penicillins* seperti *methicillin, oxacillin, cefoxitin,* dan *flucloxacillin* dan bersifat patogen yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial. Bakteri MRSA mengalami resistensi akibat adanya perubahan genetik yang disebabkan oleh paparan antibiotik yang tidak rasional dan terkontrol (Suyasa, 2020).

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen yang berasal dari lingkungan atau fasilitas kesehatan yang kurang baik sehingga tingkat morbiditas dan mortilitasnya relatif tinggi. Salah satu jenis penyakit infeksi yang sudah banyak diketahui adalah infeksi nosokomial yang terjadi di rumah sakit atau fasilitas kesehatan lainnya dan menyerang pasien-pasien yang sedang menjalani perawatan, tenaga medis atau pengunjung rumah sakit akibat adanya perpindahan atau penularan bakteri patogen dari tenaga kesehatan ke pasien, pasien ke pengunjung, atau dapat juga melalui peralatan dan lingkungan rumah sakit (Wikansari, 2012).

Infeksi nosokomial dapat ditularkan melalui udara, air, makanan, lantai, tenaga kesehatan, pasien, pengunjung dan peralatan medis maupun non-medis yang berada di rumah sakit (Palawe *et al.*, 2015). Salah satu spesies bakteri yang banyak ditemukan di rumah sakit adalah bakteri *S. aureus* yang sebenarnya merupakan flora normal pada saluran pernafasan dan kulit, namun pada kondisi tertentu berubah menjadi patogen (Rahmadani *et al*., 2017)

Mengingat persentase bahaya yang ditimbulkan dari bakteri MRSA cukup besar, maka perlu dilakukan beberapa upaya pemeliharaan dan penyimpanan kultur murni bakteri MRSA di laboratorium. Hal ini perlu dilakukan agar semua hal yang terkait dengan karakter atau sifat dari bakteri tersebut dapat dieksplorasi dan dipelajari sehingga nantinya dapat diketahui upaya pengendalian dan pengobatan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri MRSA ini.

Pemeliharaan dan penyimpanan kultur murni bakteri merupakan salah satu kunci penting di laboratorium mikrobiologi. Memiliki kultur murni bakteri akan mempermudah proses pembelajaran dan juga penelitian-penelitian yang dilaksanakan di laboratorium. Atas dasar itulah, maka koleksi kultur bakteri patogen yang diperoleh dari pasien harus dilestarikan (Susilawati & Purnomo, 2016).

Penyimpanan atau preservasi kultur bakteri dapat dilakukan dalam periode jangka pendek maupun jangka panjang. Tujuan dari dilakukannya preservasi bakteri ini adalah untuk menghambat atau mengendalikan laju aktivitas metabolisme bakteri sehingga sifat dan karakter fisiologisnya tidak berubah, masih tetap sama dengan karakter ketika bakteri ini pertama kali ditemukan atau diisolasi.

Pemilihan periode (masa simpan) bakteri umumnya ditentukan berdasarkan pada beberapa faktor seperti tujuan

https://doi.org/10.52523/maskermedika.v11i2.563
Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-SA 4.0)

Jurnal Masker Medika
e-ISSN : 2654-8658
p -ISSN :2301-8631
Volume 11, Nomor 2. Desember 2023
http://jmm.ikestmp.ac.id
10.52523/maskermedika.v11i2.563

preservasi, pemanfaatan bakteri, ciri morfologi, ciri fisiologis (biokimia) dan kemampuan bakteri untuk hidup pada lingkungan alami maupun buatan (Susilawati & Purnomo, 2016). Preservasi bakteri jangka pendek umumnya digunakan untuk kegiatan rutin seperti praktikum dan penelitian, sedangkan preservasi jangka panjang umumnya digunakan di bidang industri atau terapan. Keberhasilan preservasi bakteri sangat ditentukan oleh teknologi yang digunakan, fasilitas yang tersedia dan juga kemampuan dan keterampilan dari pengelolanya.

Preservasi bakteri dengan periode yang panjang dan paling efektif adalah preservasi menggunakan metode *liofilisasi* atau kering beku. Dengan metode ini, karakter morfologi, fisiologis (sifat biokimia) dan juga viabilitas bakterinya dapat dipertahankan dengan baik, proses perubahan karakter tetap ada, namun persentasenya sangat kecil. Namun sayangnya, metode ini tidak dapat dilakukan di semua laboratorium, mengingat metode ini membutuhkan sumber daya baik berupa sarana prasarana, pengelola dan juga pendanaan yang sangat tinggi (Fariani, 2021).

Metode preservasi bakteri untuk jangka pendek dapat dilakukan dengan cara transfer kultur murni bakteri secara rutin (berkala) dari satu media ke media baru. Selain itu, juga dapat dilakukan dengan cara mengawetkan bakteri. di dalam bahan-bahan agen preservasi seperti minyak mineral, parafin cair, tanah steril, akuades steril, manik-manik porselen, lempeng gelatin dan vakum P_2O_5. Metode preservasi jangka pendek ini umumnya digunakan oleh laboratorium-laboratorium mikrobiologi yang memiliki keterbatasan sarana prasarana dan juga pendanaan (Fariani, 2021).

Hasil penelitian (Criste *et al*., 2014)menyatakan bahwa diantara beberapa metode yang digunakan untuk mengawetkan bakteri, *cryopreservation* dan *freeze drying* merupakan metode yang paling efektif dan tahan lama. *Cryopreservation* membutuhkan penggunaan suhu yang sangat rendah untuk menjaga struktur sel dan jaringan tetap utuh. Parveen *et al.* (2016) menyatakan bahwa umur bakteri pada alat pendingin biasa adalah 1-2 tahun. Hasil penelitian dari Susilowati dan Purnomo (2016) menunjukkan bahwa preservasi bakteri dapat dilakukan menggunakan bahan *Cryoprotectant* yang mengandung 10% *skim milk,* 10% gliserol dan 10% dimetil sulfoksida (DMSO), dan hasilnya memberikan viabilitas yang lebih baik pada bakteri *E. coli, S. aureus, S. flexneri* dan *B. Subtilis (Supriatin et al*., 2020).

Larutan dimetil sulfoksida (DMSO) merupakan larutan kimia yang termasuk dalam bahan *Cryoptectant Agent* (CPA) yang berguna secara universal untuk sebagian besar sampel. Larutan ini bersifat *selective permeable* sehingga dapat menembus membran sel. Menurut Gagel *et al.* (2017), larutan DMSO dengan konsentrasi 5% menjadi agen *cryoprotectant* yang lebih disukai untuk sebagian besar strain bakteri (Ali *et al*., 2021). Atas dasar inilah, maka peneliti merasa tertarik untuk melakukan penelitian mengenai preservasi bakteri MRSA menggunakan larutan DMSO dan suhu preservasi berbeda dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh larutan DMSO dan suhu preservasi yang berbeda dalam preservasi bakteri MRSA.

BAHAN DAN METODE

Desain, Tempat dan Waktu

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian kuantitatif dengan menggunakan Uji *Multivariat anova*. Dilakukan penelitian dengan perlakuan pemberian larutan DMSO dengan konsentrasi yang berbeda yaitu konsentrasi 5% (K_1) dan 25% (K_2), serta penyimpanan kultur bakteri pada suhu yang berbeda yaitu suhu -20^{o}C (freezer) (S_1), suhu 4 ^{o}C (refrigerator) (S_2), dan 20-28 ^{o}C (suhu ruang) (S_3). Atas dasar tersebut, maka diperoleh rancangan penelitian dengan kombinasi kode K_1S_1, K_1S_2, K_1S_3, K_2S_1, K_2S_2, dan K_2S_3

https://doi.org/10.52523/maskermedika.v11i2.563
Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-SA 4.0)

Jurnal Masker Medika
e-ISSN : 2654-8658
p -ISSN :2301-8631
Volume 11, Nomor 2. Desember 2023
http://jmm.ikestmp.ac.id
10.52523/maskermedika.v11i2.563

Penelitian ini telah dilakukan di Gedung Laboratorium Terpadu, yaitu Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Periode waktu penelitian dimulai dari bulan Juli 2022 sampai bulan Oktober 2022.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi autoklaf (Hirayama HVE-50), *ice box,* inkubator (*Binder ED 115)*, tabung reaksi, *hot plate* (Scilogex MS7-H550-S)*, stirring hotplate, Laminar Air Flow* (*Mascotte* Model LV-S)*,* cawan petri, jarum ose, kulkas dan *freezer* (Refrigerator Sanyo 2 Pintu Type SR-1780BSD), kamera, timbangan analitik (Ohaus), *colony counter* (*Stuart Scientific* 7755)*,* beaker glass, botol vial, botol kaca, batang pengaduk, mikropipet (Socorex), *blue tip*, bunsen, *microtube*, penjepit tabung.

Bahan habis pakai yang digunakan pada penelitian ini meliputi media *Plate Count Agar* (PCA), media *Triptic Soy Agar* (TSA), akuades, *cotton bud* streril, *silica gel,* larutan dimetil sulfoksida (DMSO), spiritus, tissu, alkohol 90%, *wrapping, alumunium foil*, kapas, kantong plastik dan kultur bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Cara Kerja

1. **Peremajaan Kultur**

   Kultur yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri MRSA yang diperoleh dari salah satu Rumah Sakit di Kabupaten Purbalingga. Isolat bakteri diperbanyak pada media TSA miring dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 2 x 24 jam.
2. **Pembuatan stok kultur bakteri MRSA**

   Isolat bakteri yang diperoleh (umur 2 x 24 jam) ditumbuhkan kembali ke dalam media TSA cawan secara *spread plate* dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA cawan tersebut dipanen menggunakan *silica gel* yang dimasukkan ke dalam cawan petri, digoyang-goyang sehingga *silica gel* akan bergerak ke segala arah dan koloni bakteri akan menempel pada permukaan *silica gel.* Setelah itu, ke dalam *microtube* 1,5 ml, dimasukkan 3 butir *sillica gel* yang telah mengandung bakteri MRSA.
3. **Preparasi Larutan DMSO**

   Penelitian ini menggunakan satu jenis *cryprotectant agents* yaitu larutan dimetil sulfoksida (DMSO) dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu konsentrasi 5% dan 25%.
4. **Pembuatan suspensi kultur bakteri MRSA dengan larutan DMSO**

   Pada setiap *microtube* yang sudah diisi dengan silica gel ditambahkan sebanyak 1 ml larutan DMSO dengan konsentrasi berbeda yaitu :
   - *Microtube* 1: berisi 1 ml larutan DMSO 5% dan *silica gel* bakteri MRSA
   - *Microtube* 2: berisi 1 ml larutan DMSO 25% dan *silica gel* bakteri MRSA
5. **Penyimpanan kultur bakteri MRSA**

   Microtube yang berisi larutan DMSO dan sel bakteri disimpan pada 3 tempat yang berbeda suhunya yaitu pada suhu ruang (20-28 ^{o}C), suhu 4 °C (refrigerator) dan -20 ^{o}C (*freezer*).
6. **Uji viabilitas bakteri MRSA**

   Kultur bakteri MRSA yang telah disimpan pada 3 tempat dengan suhu yang berbeda diambil setiap bulan untuk dilakukan pengecekan viabilitasnya dalam kurun waktu 4 bulan. Dari setiap boks penyimpanan diambil sebanyak 1 *microtube* kultur bakteri MRSA untuk kemudian ditumbuhkan kembali ke dalam medium PCA cawan secara *spread plate*, dan diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah itu dilakukan pengamatan ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri, apabila ada koloni bakteri yang tumbuh, maka dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada

https://doi.org/10.52523/maskermedika.v11i2.563
Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-SA 4.0)

Jurnal Masker Medika
e-ISSN : 2654-8658
p -ISSN :2301-8631
Volume 11, Nomor 2. Desember 2023
http://jmm.ikestmp.ac.id
10.52523/maskermedika.v11i2.563

masing-masing media PCA cawan menggunakan *colony counter*

HASIL

Penelitian telah dilaksanakan dengan baik dan lancar dengan hasil penelitian seperti ditunjukkan pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Viabilitas bakteri MRSA pada larutan DMSO dan suhu penyimpanan berbeda.

Kode	Jumlah koloni (x 10^3) cfu/m^3			
	1	2	3	4
K_1S_1	<30 (0,1)	0	1,2	5,0
K_1S_2	>3,0 (5,4)	>3,0 (3,7)	<3,0 (0,1)	0
K_1S_3	<3,0 (0,6)	0	0	<3,0 (0,1)
K_2S_1	0	2,2	8,2	1,1
K_2S_2	>3,0 (6,1)	>3,0 (6,2)	0	>3,0 (3,0)
K_2S_3	0	<3,0 (0,1)	0	0

Keterangan :
- K_1S_1 : DMSO 5% suhu *freezer*
- K_1S_2 : DMSO 5% suhu 4 ^oC
- K_1S_3 : DMSO 5% suhu ruang
- K_2S_1 : DMSO 25% suhu *freezer*
- K_2S_2 : DMSO 25% suhu 4 ^oC
- K_2S_3 : DMSO 25% suhu ruang

Tabel 2. Uji statistik deskriptif rerata pertumbuhan bakteri.

Kelompok	Suhu	N (Mean ± Std) cfu/ml
K_1	S_1	1575.00 ± 2347.161
	S_2	2300.00 ± 2689.586
	S_3	180.00 ± 285.657
	Total	1351.67 ± 2083.711
K_2	S_1	2875.00 ± 3661.853
	S_2	3825.00 ± 2951.130
	S_3	25.00 ± 50.00
	Total	2241.67 ± 2979.463

Keterangan :
- cfu/ml : *colony forming units*
- K_1 : DMSO 5%
- K_2 :DMSO 25%

Tabel 3. Uji homogenitas

Levene's Test of Equality of Error Variances[a]

Dependent Variable: Jumlah Bakteri MRSA

F	df1	df2	Sig.
2.454	5	18	.073

Berdasarkan Tabel 3. mengenai uji homogenitas data, diperoleh nilai p=0.073 yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan pengaruh antara perlakuan pemberian DMSO dengan suhu.

Tabel 4. Kelompok perlakuan DMSO

(I) Kel	(J) Kel	Rerata ± SD	Perbedaan Rerata	P
K_1	K_2	1351.6 ± 2083.711	-890.000	.360
K_2	K_1	2241.67± 2979.463	890.000	.360

Berdasarkan data yang tersaji pada Tabel 4, diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan jumlah sel bakteri yang signifikan, tetapi jumlah sel bakteri yang tumbuh pada perlakuan K_2 lebih banyak pada perlakuan K_1.

Tabel 5. Kelompok perlakuan suhu Penyimpanan

(I) Suhu	(J) Suhu	Rerata ± SD	Perbedaan Rerata	P
S_1	S_2	2300.00 ± 2689.586	-837.500	.480
	S_3	180.00 ± 285.657	2122.500	.083
S_2	S_1	1575.00 ± 2347.161	837.500	.480
	S_3	25.00 ± 50.00	2960.000*	.019
S_3	S_1	2875.00 ± 3661.853	-2122.500	.083
	S_2	3825.00 ± 2951.130	-2960.000*	.019

Keterangan :
- S_1 : Suhu *freezer*
- S_2 : Suhu 4 ^oC
- S_3 : Suhu ruang

Dari Tabel 5, diketahui bahwa perlakuan suhu S_2 dan S_3 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai p=0.19.

Tabel 6. Multiple Comparison

(I) Suhu	(J) Suhu	Mean Difference	Std. Error	Sig.
S_1	S_2	-837.50	1162.763	.755
	S_3	2122.50	1162.763	.187

https://doi.org/10.52523/maskermedika.v11i2.563
Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-SA 4.0)

Jurnal Masker Medika
e-ISSN : 2654-8658
p -ISSN :2301-8631
Volume 11, Nomor 2. Desember 2023
http://jmm.ikestmp.ac.id
10.52523/maskermedika.v11i2.563

S_2	S_1	837.50	1162.763	.755
	S_3	2960.00*	1162.763	.048*
S_3	S_1	-2122.50	1162.763	.187
	S_2	-2960.00*	1162.763	.048*

Keterangan :

- * : Beda signifikan

Tabel 6. Menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai p=0.48* antara perlakuan S_2 dengan S_3.

PEMBAHASAN

Pada penelitian yang telah dilakukan terhadap bakteri MRSA selama 4 bulan, diperoleh informasi bahwa perbedaan konsentrasi larutan DMSO dan suhu penyimpanan dapat mempengaruhi viabilitas bakteri MRSA. Hasil ini didasarkan pada perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media PCA menggunakan metode SPC/TPC.

Jumlah koloni bakteri MRSA yang dipreservasi pada larutan DMSO 5% (K_1) secara umum lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri MRSA pada larutan DMSO 25% (K_2). Jumlah koloni bakteri pada larutan DMSO 5% paling tinggi dicapai pada perlakuan K_1S_2 dengan jumlah 5,4 x 10^3 cfu/ml, sedangkan jumlah koloni bakteri pada larutan DMSO 25% paling tinggi dicapai pada perlakuan K_2S_1 dengan jumlah 8,2 x 10^3 cfu/ml. Menurut (Rojas-Tapias et al., 2013) DMSO merupakan *cryoprotectant* yang dapat menurunkan titik otentik air sehingga dapat mencegah pembentukan kristal es di dalam sel bakteri.

Jumlah koloni bakteri MRSA yang dipreservasi pada suhu -20 ^oC (S_1) umumnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan bakteri yang disimpan pada suhu 4 ^oC (S_2) dan suhu 20-28 ^oC (S_3). Hal ini dapat dilihat pada tabel 1, bahwa perlakuan K_2S_1 memiliki jumlah koloni yang paling tinggi yaitu 8,2 x 10^3 cfu/ml. Suhu penyimpanan dapat mempengaruhi viabilitas bakteri dengan cara mengganggu metabolisme bakteri. Menurut Mahmmoud, (2020) suhu terbaik untuk mempertahankan bakteri *S. aureus* adalah pada suhu -20 ^oC, bakteri tidak hanya memiliki morfologi yang tidak berubah pada suhu ini, tetapi penyimpanan pada suhu ini juga dapat memperlambat reaksi biokimia di dalam sel sehingga produk-produk metabolisme yang bersifat toksik tidak terbentuk.

Pada penelitian ini, suspensi bakteri yang membeku dikeluarkan dari boks penyimpanan dan dibiarkan beberapa saat pada suhu kamar sampai suspensi bakteri mencairkan. Untuk mempercepat proses tersebut, maka dilakukan proses *thawing* dengan cara memutar-mutar *tube* menggunakan telapak tangan. Adanya proses *thawing* ini menyebabkan sel-sel bakteri yang terdapat di dalam *tube* akan mengalami goncangan dan saling bertabrakan dengan sel lain ataupun dengan partikel es sehingga banyak sel bakteri yang mengalami kematian dan berimplikasi pada viabilitas bakteri menjadi rendah. Menurut Setiaji et al., (2015), proses *thawing* yang baik dapat dilakukan dengan cara merendam *microtube* yang berisi suspensi bakteri ke dalam air hangat dengan suhu 37 ^oC selama 60-90 detik.

Berdasarkan data pada tabel 2 tentang uji statistik deskriptif rerata pertumbuhan bakteri, dapat diketahui bahwa suhu yang paling baik untuk preservasi bakteri MRSA adalah suhu 4 ^oC dengan rerata jumlah sel bakteri paling tinggi untuk masing-masing konsentrasi DMSO yaitu 2300.00 ± 2689.586 cfu/ml dan 3825.00 ± 2951.130 cfu/ml. Menurut penelitian Amriani & Tuahatu (2021), bakteri *S. aureus* dapat ditumbuhkan kembali dengan baik pada media pertumbuhan setelah disimpan selama 6 bulan pada suhu 4 ^oC. Selain itu, menurut Fitriana (2019), menyatakan bahwa semakin rendah suhu penyimpanan, maka akan semakin lambat pula proses metabolisme di dalam sel bakteri tersebut dan bahkan sampai berhenti. Semakin lambat proses metabolisme, maka senyawa toksik yang dihasilkan dari proses metabolisme semakin sedikit.

Pada tabel 3 uji homogenitas didapatkan (p=0.073) yang menandakan tidak ada perbedaan pengaruh antara perlakuan pemberian DMSO dengan suhu. Menurut Hine *et al*., (2019) penggunaan DMSO pada suhu yang tidak

https://doi.org/10.52523/maskermedika.v11i2.563
Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-SA 4.0)

Jurnal Masker Medika
e-ISSN : 2654-8658
p -ISSN :2301-8631
Volume 11, Nomor 2. Desember 2023
http://jmm.ikestmp.ac.id
10.52523/maskermedika.v11i2.563

tepat dapat menyebabkan terjadinya pembengkakan atau kerusakan sel. Menurut Siddiqui *et al*., (2017), larutan DMSO dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10% dan 15% dapat digunakan untuk preservasi dengan masa simpan selama enam bulan dengan viabilitas sel tertinggi (75%) terjadi pada konsentrasi DMSO 10%, sedangkan pada konsentrasi DMSO 15%, viabilitas selnya paling rendah (53%).

Tabel 4 pada kelompok perlakuan DMSO diperoleh hasil tidak terdapat perbedaan jumlah sel bakteri yang signifikan, tetapi jumlah sel bakteri yang tumbuh pada perlakuan K_2 lebih banyak dari pada K_1. Menurut Prakash *et al*., (2013) DMSO memiliki kemampuan penetrasi yang lebih baik jika dibandingkan dengan gliserol, tetapi penggunaan larutan DMSO terbatas karena memiliki sifat yang toksik pada konsentrasi yang lebih tinggi. Selain itu, menurut Siddiqui *et al*., (2017) larutan DMSO dapat menyebabkan kerusakan sel bakteri karena sifat sitoksitasnya. Oleh karena itu penentuan konsentrasi terbaik DMSO untuk preservasi bakteri sangat penting.

Tabel 5 menunjukan terdapat beda signifikan diantara suhu 4 ^oC dengan 20-28 ^oC dengan nilai (p=0.019). Hal demikian juga terlihat pada tabel 6 yang menunjukan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai p=0.048* antara perlakuan S_2 dengan S_3. Dari tabel 5 dapat diketahui bahwa pertumbuhan bakteri MRSA paling baik terjadi pada kedua suhu ini. Penyimpanan pada suhu dingin (4 ^oC) dapat mempertahankan kondisi sel bakteri dalam jangka pendek (Siburian *et al*., 2012). Menurut penelitian Soltys *et al*., (2012) menyatakan bahwa bakteri *S. aureus* yang disimpan pada suhu 25 ^oC menunjukkan perubahan lebih besar dalam jumlah sel yang dikultur. Selain itu, penyimpanan pada suhu ini juga berkaitan dengan penggunaan DMSO sebagai agen preservasi. Pemilihan DMSO sebagai agen preservasi memiliki risiko yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan agen preservasi lainnya karena sifat toksisitasnya yang tinggi pada suhu ruang.

Suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap kelangsungan hidup bakteri yang diuji. Berdasarkan penelitian (Amriani & Tuahatu, 2021) menjelaskan bahwa terdapat pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap viabilitas bakteri patogen.

Penyimpanan bakteri pada suhu dingin atau beku (-20 ^oC) terjadi penurunan jumlah sel bakteri yang signifikan akibat adanya kerusakan sel. Waktu penyimpanan juga dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri, semakin lama waktu penyimpanan maka nutrisi di dalam media akan berkurang sehingga sel-sel bakteri akan saling berkompetisi untuk mendapatkan nutrisi yang terbatas dan akhirnya banyak sel bakteri yang mengalami kematian (Amriani & Tuahatu, 2021)

Kriopreservasi adalah pengawetan jangka panjang sel, jaringan dan organ. Pada suhu rendah, membran sel dan sitoplasma sel bakteri dapat mengalami lisis. Untuk mencegah proses tersebut, maka digunakan larutan DMSO dengan konsentrasi yang lebih tinggi dengan harapan dapat mencegah pembentukan es di dalam sel, jaringan dan organ selama proses kriopreservasi. Larutan ini lebih mudah menembus ke dalam sel dan membuat sel bakteri menjadi lebih plastis sehingga dapat mengikat air yang pada gilirannya dapat mencegah sel bakteri dari kekeringan dan pembentukan kristal es di dalam sel (Susilawati & Purnomo, 2016)

Pada penelitian ini, terdapat keterbatasan berupa adanya kontaminasi selama proses uji viabilitas. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor seperti penggunaan *silica gel* tidak dilakukan proses sterilisasi terlebih dahulu karena menganggap bahwa silica gel yang digunakan sudah dikemas dalam kondisi steril. Selain itu, penggunaan LAF (*Laminar Air Flow*) secara bersama-sama (bersebelahan) juga dapat menimbulkan kontaminasi.

https://doi.org/10.52523/maskermedika.v11i2.563
Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-SA 4.0)

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa konsentrasi larutan DMSO yang tinggi dan suhu preservasi yang berbeda dapat mempengaruhi viabilitas bakteri MRSA. Suhu preservasi yang terbaik diperoleh pada suhu 4 ^{o}C.

Saran

Saran pada penelitian ini perlu diadakannya pengembangan penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan menggunakan *cryoprotectant* yang berdeda sehingga diperoleh perbedaan pertumbuhan bakteri pada media yang berbeda sebagai pembeda satu dengan lainnya. Selain itu perlu dilakukan pemilihan dan penggunaan metode yang lebih efektif agar dapat meminimalisasi faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

FUNDING

Penelitian ini tidak menerima bantuan pendanaan dari pihak manapun.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada potensi konflik kepentingan yang dilaporkan penulis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada pihak-pihak yang membantu pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

KEPUSTAKAAN

Ali, P., Fucich, D., Shah, A. A., & Hasan, F. (2021). *Kriopreservasi Cyanobacteria dan Mikroalga Eukariotik Menggunakan Exopolysaccharide Diekstraksi dari Bakteri Gletser*.

Amriani, Y. A., & Tuahatu, J. W. (2021). Jurnal Penelitian Sains. *Jurnal Penelitian Sains*, *21*(3), 163–167.

Criste, A., Giuburuncă, M., Negrea, O., Dan, S., & Zăhan, M. (2014). Research Concerning Use of Long-Term Preservation Techniques for Microorganisms. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, *47*(2), 47.

Fariani, R. (2021). *Perbandingan Teknik Penyimpanan Menggunakan Medium Yang Berbeda Terhadap Viabilitas Kapang Colletotrichum capsici dan Prycularia oryzae*. *3*(2), 69–76.

Fitriana. (2019). Preservation of Corynebacterium striatum bacteria using silica gel. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, *5*(1), 134–138. https://doi.org/10.13057/psnmbi/m050125

Hine, T. M., Uly, K., Nalley, W. M., & Armadianto, H. (2019). Kualitas Sperma Beku Sapi Bali dalam Pengencer Air Kelapa Modifikasi dengan Berbagai Aras Dimethyl Sulfoxide (Frozen Sperm Quality Of Bali Bulls In Modified Coconut Water Extender With Different Dimethyl Sulfoxide Concentration). *Jurnal Veteriner*, *20*(1), 93. https://doi.org/10.19087/jveteriner.2019.20.1.93

Kurniawan, Adining T.E., & Supriyadi. (2021). Prevalensi Bakteri Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Peralatan Laboratorium. *The Journal of Muhamadiyah Medical Laboratory Technologist*, *2*(4), 188–200.

Mahmmoud, E. N. (2020). Comparison of preservation methods of staphylococcus aureus and escherichia coli bacteria. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, *14*(3), 2173–2180. https://doi.org/10.22207/JPAM.14.3.58

Nismawati, Sjahril, R., & Agus, R. (2018). Deteksi Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Pasien Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Dengan Metode Kultur. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, *4*(1), 978–602.

Oktavian, H. I., Nyoman, N., Budayanti, S., Darwinata, A. E., Hendrayana, M. A., Kedokteran, F., Udayana, U., Mikrobiologi, B., Fakultas, K., & Udayana, U. (2020). *PREVALENSI KARIER Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus DAN Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. *9*(11), 6–9.

Palawe, B. V., Kountul, C., & Waworuntu, O. (2015). Identifikasi Bakteri Aerob Di Udara Ruang Operasi Instalasi Bedah

Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-SA 4.0)

Sentral (Ibs) Rsup Rof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik*, *3*(3). https://doi.org/10.35790/ebm.3.3.2015.10563

Prakash, O., Nimonkar, Y., & Shouche, Y. S. (2013). Practice and prospects of microbial preservation. *FEMS Microbiology Letters*, *339*(1), 1–9. https://doi.org/10.1111/1574-6968.12034

Rahmadani, A., Budiyono, & Suhartono. (2017). Gambaran Keberadaan Bakteri Staphylococcus Aureus, Kondisi Lingkungan Fisik, Dan Angka Lempeng Total Di Udara Ruang Rawat Inap Rsud Prof. Dr. M.a Hanafiah Sm Batusangkar. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (e-Journal)*, *5*(5), 492–501.

Rojas-Tapias, D., Ortiz-Vera, M., Rivera, D., Kloepper, J., & Bonilla, R. (2013). Evaluation of three methods for preservation of Azotobacter chroococcum and Azotobacter vinelandii. *Universitas Scientiarum*, *18*(2), 129–139. https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC18-2.etmp

Setiaji, J., Iskandar Johan, T., & Meliya Widantari, dan. (2015). Pengaruh Gliserol Pada Media Tryptic Soy Broth (Tsb) Terhadap Viabilitas Bakteri Aeromonas hydrophila Effect of Glycerol at the Tryptic Soy Broth (TSB) Media on Aeromonas hydrophila Bacteria Viability. *Jurnal Dinamika Pertanian*, *XXX*(April), 83–91.

Siburian, E. T. P., Dewi, P., & Kariada, N. (2012). Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap pertumbuhan bakteri dan fungi ikan bandeng. *Jornal of Life Science*, *1*(2), 101–105.

Siddiqui, M., Parvin, R., Giasuddin, M., Chowdhury, S., Islam, M., & Chowdhury, E. (2017). The effect of different concentrations of Dimethyl sulfoxide (DMSO) and glycerol as cryoprotectant in preserving Vero cells. *Bangladesh Veterinarian*, *33*(1), 1–7. https://doi.org/10.3329/bvet.v33i1.33307

Soltys, R. C., Balen, J. Van, & Hoet, A. E. (2012). *1 Comparative Toxicity of Cryoprotectants on Staphylococcus aureus at Room Temperature Rachel C. Soltys, Joany Van Balen, Armando E. Hoet*. *1*, 1–7.

Supriatin, Y., Fadhilah, F., & Sumirat, V. A. (2020). *Penyimpanan Bakteri Escherichia coli Dan Streptococcus pneumonie Pada Media Cryoprotective Dengan Metode Freeze Drying*. *12*, 24–30. https://doi.org/10.25134/quagga.v12i1.2148.Received

Susilawati, L., & Purnomo, E. (2016). Viabilitas Sel Bakteri Dengan Cryoprotectant Agents Berbeda (Sebagai Acuan Dalam Preservasi Culture Collection di Laboratorium Mikrobiologi). *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, *4*(1), 34–40. https://doi.org/10.24252/bio.v4i1.1118

Suyasa, I. B. O. (2020). Gambaran Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Petugas Kesehatan RSUD Wangaya Kota Denpasar. *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, *8*(1), 46–52. https://doi.org/10.33992/m.v8i1.1074

Wikansari, N. (2012). Pemeriksaan Total Kuman Udara Dan Staphylococcus Aureus Di Ruang Rawat Inap Rumah Sakit X Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro*, *1*(2), 18795.

Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-SA 4.0)