

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Konsep Kuman dan Bakteri

1. Definisi kuman

Kuman merupakan mikroorganisme seperti bakteri, protozoa, virus, jamur mikroskopis kecil yang dianggap sebagai entitas berbahaya yang mampu menimbulkan berbagai penyakit ataupun gangguan kesehatan pada tubuh inangnya seperti manusia dan hewan (Amaliyah, 2017).

Suatu hal yang dapat mengakibatkan penyakit dengan reaksi masuknya kuman ke dalam manusia disebut dengan transmisi kuman. Proses transmisi kuman melibatkan beberapa hal, yaitu (Uliyah & Hidayat, 2008):

- a. *Reservoir* adalah habitat bagi tumbuh kembang mikroorganisme.
- b. Jalan masuk adalah cara mikroorganisme memasuki tempat-tempat pengumpulan kuman, seperti saluran pencernaan, saluran pernafasan, kulit dan lainnya.
- c. *Host* (inang) adalah lingkungan yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme dengan keberadaan ketahanan kuman.
- d. Jalan keluar sebagai tempat keluarnya suatu mikroorganisme dari reservoir.
- e. Jalur penyebaran adalah tempat yang digunakan sebagai menyebarkan beberapa jenis mikroorganisme ke tempat-tempat berdda, seperti udara, air, makanan dan lainnya.

2. Definisi bakteri

Salah satu golongan mikroorganisme yang tidak terlihat oleh pandangan manusia adalah bakteri. Jika dibandingkan dengan makhluk hidup lainnya, bakteri merupakan

organisme dengan jumlah yang paling banyak. Ada ribuan jenis bakteri yang dapat ditemukan di udara, laut, udara dan lingkungan ekstrim lainnya (Rini & Rochmah, 2020).

Bakteri juga disebutkan sebagai organisme berdinding sel, maka dapat diklasifikasikan sebagai tumbuhan berdasarkan isi atau struktur dinding selnya. Namun, ketika melihat kemampuan beberapa sel bakteri dalam bergerak pindah tempat, maka dapat mengklasifikasikan bakteri sebagai hewan (Doleng, 2015).

3. Morfologi bakteri

Menurut Rini & Rochmah (2020) dijelaskan organisme yang jumlahnya paling banyak dan tersebar luas di dunia dibandingkan makhluk hidup lainnya adalah bakteri.

Ciri-ciri berbeda dengan makhluk lain yang dimiliki oleh bakteri yaitu:

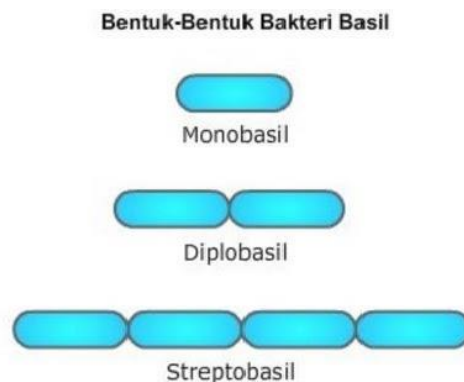
- a. Makhluk hidup uniseluler (mempunyai satu sel)
- b. Tidak mempunyai membrane inti sel (Prokariotik)
- c. Tidak mempunyai klorofil
- d. Ukuran tubuhnya berkisar 0,12 mikron hingga ratusan mikron
- e. Mempunyai dinding sel
- f. Parasit atau hidup dengan bebas
- g. Dinding selnya mengandung peptidoglikan sehingga hidup bakteri kosmopolit diberbagai lingkungan
- h. Bakteri mempunyai struktur yang disebut endospore, yakni kapsul yang muncul ketika lingkungan tidak menguntungkan dan berfungsi sebagai perlindungan terhadap suhu tinggi serta gangguan alam
- i. Beberapa bakteri menggunakan flagela untuk bergerak, sementara yang lain tanpa menggunakan flagela (berguling)

Bentuk bakteri dibedakan menjadi 3 bentuk, diantaranya:

a. Bentuk batang

Basil merupakan kata lain bakteri yang berbentuk batang. Basil bersumber dari *bacillus* yang artinya batang. Bentuk batang bakteri dibedakan atas:

- 1) Bakteri yang mempunyai batang tunggal disebut basil tunggal, seperti *Salmonella typhi*.
- 2) Diplobasil adalah bentuk bakteri yang batangnya bergandengan dua per dua sekaligus.
- 3) Streptobasil adalah bentuk bakteri batangnya terikat memanjang untuk membuat rantai, seperti *Bacillus anthracis*.



Gambar 1 Bentuk batang basil

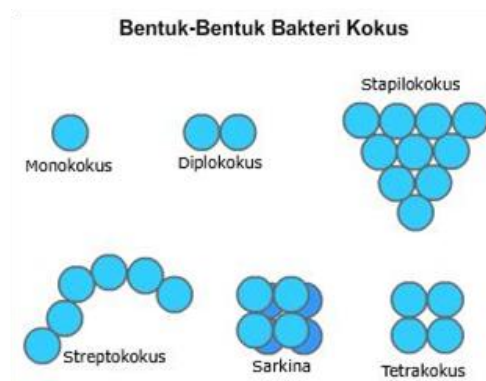
(Sumber: *Buku Bakteriologi Dasar Rini & Rochmah (2020)*)

b. Bentuk bulat

Coccus dikenal sebagai bakteri yang berbentuk bulat, bentuk *coccus* pada bakteri terdiri dari:

- 1) Monokokus adalah bakteri dengan bentuk bulat tunggal, seperti *Neisseria gonorrhoeae*.
- 2) Diplokokus adalah bentuk bakteri yang bulat dengan bergandengan dua-dua, seperti *Diplococcus pneumonia*.

- 3) Sarkina merupakan salah satu jenis bakteri berbentuk bola yang membentuk kelompok empat kali empat yang menyerupai bentuk kubus.
- 4) Streptokokus adalah bentuk bulat bakteri yang berkelompok memanjang seperti rantai.
- 5) Stafilokokus, bentuk bakteri bulat berkoloni dengan seperti buah anggur yang membentuk sekelompok sel tidak teratur.



Gambar 2 Bentuk kokus bakteri

(Sumber: *Buku Bakteriologi Dasar Rini & Rochmah (2020)*)

c. Bentuk spiral, ada tiga bentuk, yaitu:

- 1) Spiral, bakteri yang berbentuk spiral.
- 2) Vibrio, bentuk spiral yang tidak ideal.
- 3) Spiroseta, bersifat lentur dan ketika bergerak tubuh bakteri dapat mengerut dan memanjang.

4. Faktor pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan bakteri merupakan semakin banyaknya jumlah sel pada mikroba tersebut. Sedangkan koloni adalah kumpulan mikroba dengan sifat serupa seperti bentuk dan susunan permukaan. Faktor lingkungan memengaruhi pertumbuhan mikroba, berikut faktor-faktor lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu:

a. Suhu/temperatur

Terdapat kisaran suhu dimana bakteri dapat tumbuh dan berkembang, jika suhu tersebut ideal untuk bakteri maka dapat memicu perkembangan bakteri secara cepat. Suhu minimum, suhu optimum dan suhu maksimum merupakan bagian dari suhu pertumbuhan bakteri. Dilihat dari rentang suhu pertumbuhan bakteri dapat dibedakan menjadi:

- 1) Psikrofilik, bakteri yang dapat bertahan pada suhu berkisar antara -5°C hingga 30°C dengan suhu pertumbuhan ideal 10°C - 20°C .
- 2) Mesofilik, bakteri yang dapat bertahan pada suhu berkisar antara 10°C hingga 45°C , dengan suhu pertumbuhan ideal 20°C - 40°C .
- 3) Termofilik, bakteri dapat hidup di udara panas seperti pada suhu 25°C - 80°C , dengan suhu pertumbuhan ideal pada 50°C - 60°C .

Suhu ideal merujuk pada suhu yang umumnya mencerminkan lingkungan alami mikroorganisme. Bakteri berbahaya bagi manusia akan berkembang pada suhu 37°C .

b. pH

pH merupakan derajat keasaman suatu larutan. pH optimal bakteri patogen yaitu 7,2-7,6. Walaupun pH medium diatur sesuai kebutuhan pertumbuhan awal, namun seiring berjalannya waktu pertumbuhan mikroorganisme akan terhambat oleh produk-produk metabolit yang dihasilkan.

- 1) Asidofil, tumbuh dengan kisaran pH 2-5
- 2) Neutrophil, tumbuh dengan kisaran pH 5,5-8
- 3) Alkalofil, tumbuh dengan kisaran pH 8,4-9,5

c. Kelembaban

Mikroorganisme memiliki titik optimal kelembaban. Bakteri bisa berkembang pada media yang basah dan udara dengan kelembaban tinggi. Kandungan air bebas dalam larutan untuk bakteri biasanya berkisar antara 0,90 hingga 0,999.

d. Ketersediaan oksigen

Menurut kebutuhan oksigen bakteri dikelompokkan menjadi:

- 1) Aerobik merupakan ketika hanya tumbuh dengan oksigen bebas
- 2) Anaerob merupakan ketika hanya tumbuh jika tidak ada oksigen bebas
- 3) Anaerob fakultatif merupakan ketika tumbuh baik dengan atau tidak adanya oksigen bebas
- 4) Mikroaerofilik merupakan ketika tumbuh dengan oksigen dalam jumlah kecil

e. Tekanan osmosis

Tekanan osmosis memiliki dampak yang signifikan pada bakteri. Ketika lingkungan hipertonis (tekanan osmosis lebih tinggi), sel bakteri akan mengalami plasmolisis yaitu kehilangan cairan melalui membrane sitoplasma. Sebaliknya jika lingkungan hipotonis (tekanan osmosis lebih rendah) mengakibatkan sel membesar dan berpotensi rusak. Oleh karena itu, bakteri harus menjaga tekanan osmosis pada tingkat yang tepat untuk mempertahankan hidupnya. Meskipun bakteri mudah beradaptasi, tidak banyak perbedaan tekanan osmotik antara lingkungannya. Mikroba dapat dikategorikan menurut tekanan osmotik yang dibutuhkannya:

- 1) Mikroba dapat tumbuh pada gula dengan kadar tinggi disebut mikroba osmofil.
- 2) Mikroba dapat tumbuh pada garam halogen dengan kadar yang tinggi disebut mikroba halofil.

- 3) Kelompok mikroba golongan bakteri yang tidak mampu mati namun tidak berkembang pada lingkungan dengan garam yang tinggi, dimana kadar garam hanya dapat menjangkau 30% disebut mikroba halodurik.

f. Nutrisi

Nutrisi dibutuhkan mikroba sebagai sarana pengembangan sel dan energi. Unsur-unsur dasar ini meliputi: karbon, nitrogen, hydrogen, oksigen, sulfur, fosfor, besi serta sejumlah kecil logam lainnya. Ketiadaan sumber nutrisi dapat berdampak pada pertumbuhan mikroorganisme dan pada akhirnya menyebabkan kematian. Berdasarkan sumber karbon serta energy yang diperlukan bakteri dikelompokkan menjadi:

- 1) Khemoheterotrof merupakan bakteri yang membutuhkan bahan-bahan organik seperti karbohidrat, lipid dan protein.
- 2) Khemoautotrof merupakan kelompok bakteri dengan sebagian karbonnya berasal dari CO₂.
- 3) Fototrof merupakan bakteri yang membutuhkan sumber karbon yang seluruhnya berasal dari CO₂.

g. Ion-ion lain

Untuk dapat berkembang bakteri memerlukan unsur-unsur kimia seperti C, H, N, S, dan P. Selain itu juga unsur mikro lainnya yang dibutuhkan oleh bakteri yaitu Zn, Fe, dan Cu. Beberapa logam berat seperti Hg, Ag, Cu, Au, dan Pb jika terdapat dalam kadar yang rendah bisa bersifat beracun atau menjadi toksin. Karena kekuatan oligodinamikanya, logam berat dapat mematikan pada konsentrasi rendah. Selain logam berat, terdapat juga ion-ion lain yang mampu memengaruhi aktivitas fisiologi mikroba termasuk sulfat, tartrat, klorida, nitrat, dan benzoate. Oleh karena itu, ion-ion ini bisa digunakan sebagai

pengawet dalam bahan tertentu. Terdapat pula senyawa lain seperti asam benzoat, asam asetat, dan asam sorbat yang dapat memengaruhi aktivitas fisiologi mikroba.

h. Radiasi

Radiasi yang menimbulkan risiko terhadap mikroorganisme disebut radiasi pengion. Dengan panjang gelombang yang pendek dan energi yang cukup untuk mengionisasi atau kehilangan electron maka radiasi jenis ini berbahaya. Radiasi pengion pada dosis rendah dapat menyebabkan mutase dan akhirnya kematian.

5. Angka kuman

Pengukuran jumlah bakteri disebut dengan angka kuman, dimana setiap sel bakteri yang berada dalam keadaan menunda pertumbuhannya akan berkembang menjadi sebuah koloni setelah diinkubasi dalam lingkungan yang tepat atau menguntungkan. Jumlah koloni yang muncul setelah periode inkubasi digunakan sebagai perkiraan atau estimasi dari jumlah sel bakteri awal (Amaliyah, 2017). Jumlah bakteri mesofil dalam satu milliliter satu gram atau cm^2 usap yang akan diperiksa kemudian dihitung didasarkan pada lempeng dasar pada standar tes (Suciati, 2015). Tidak ada perbedaan yang dibuat antara jenis koloni ketika menentukan jumlah kuman. Karena setiap koloni berasal dari satu bakteri, maka setiap koloni dianggap satu bakteri (Harsanti, 2017).

6. Jumlah bakteri pada tangan

Bakteri dapat berkolonisasi pada kulit normal manusia, jumlah bakteri aerobik dimulai lebih besar dari 1×10^6 CFU/ cm^2 pada kulit kepala, 5×10^5 CFU/ cm^2 di ketiak, 4×10^4 CFU/ cm^2 di perut sampai 1×10^4 pada lengan dan ujung jari beredar sekitar 1×10^4 CFU/ cm^2 (Indriani, 2020). Menurut penelitian Susilawaty (2017) (dalam Akim 2013) menyebutkan bahwa jumlah normal bakteri pada tangan yaitu 847 CFU/ cm^2 di telapak

tangan sedangkan pada jari-jari sebanyak 223 CFU/cm², jadi total bakteri normal pada tangan sebanyak 1070 CFU/cm².

Meskipun jumlah *resident* dan *transient bacteria* berbeda pada setiap individu, tetapi pada hal ini seringkali jumlahnya konsisten pada setiap individu. (Charles, 2013). Menurut Penelitian Pratami dkk (2013) menyebutkan bahwa jumlah bakteri pada tangan disebabkan oleh beberapa faktor yaitu, waktu sejak tangan terakhir dicuci memiliki pengaruh terhadap komunitas bakteri ditangan, faktor kedua adalah tingkat kontaminasi sesuai dengan kontak. Semakin banyak kontak yang dilakukan seperti kontak dengan rekan lainnya maupun kontak dengan peralatan atau benda lain, maka tingkat kontaminasinya akan semakin tinggi dan jumlah mikroorganismenya juga akan meningkat. Tingkat kerentanan seseorang terhadap mikroba termasuk dalam faktor ketiga. Seseorang yang kerentanan mikroorganisme makin meningkat, maka semakin banyak jumlah mikroorganisme yang ada (Pratami dkk., 2013).

B. Penyakit Akibat Tangan Kotor

Menurut Kemenkes RI (2014), mencuci tangan dengan sabun dapat membantu menghindari dari beberapa penyakit, diantaranya:

1. Diare

Diare merupakan penyebab kematian kedua terbanyak pada anak-anak balita. Kasus diare dapat ditangani dengan mencuci tangan menggunakan sabun hal ini terdapat pada tinjauan yang mengkaji sekitar 30 penelitian. Meskipun penyakit diare seringkali dikaitkan dengan kondisi air, tetapi perlu dicatat bahwa penanganan yang benar terhadap limbah manusia seperti tinja dan urin juga merupakan faktor penting. Kuman penyebab diare berasal dari limbah tersebut dan dapat membuat seseorang sakit jika masuk ke dalam

tubuh melalui peralatan makanan yang tidak dicuci, makanan mentah, tangan yang terkontaminasi atau air minum yang tercemar. Efektivitas dalam menurunkan jumlah kasus diare dengan mencuci tangan menggunakan sabun dengan tipe inovasi pencegahan terlihat dari presentase sebagai berikut: sumber air yang diolah (11%), penyediaan air (25%), Pendidikan kesehatan (28%), sanitasi (32%), penggunaan air olahan (33%), dan mencuci tangan dengan sabun (44%).

2. Penyakit saluran pernapasan

Pada anak balita infeksi saluran pernapasan merupakan penyebab kematian yang utama. Mencuci tangan dengan sabun melibatkan dua tahapan yang membantu menurunkan kejadian infeksi saluran pernapasan, yaitu: dengan memberantas agen penyebab penyakit seperti virus enterik yang tidak hanya menyebabkan diare tetapi gejala gangguan pernapasan lainnya dan menghilangkan patogen pernapasan yang terdapat pada telapak tangan. Sejumlah studi telah menemukan bahwa praktik menjaga kesehatan dan kebersihan, seperti mencuci tangan sebelum dan sesudah makan serta buang air kecil atau besar, dapat mengurangi risiko infeksi hingga 25%. Studi penelitian lain yang dilakukan di Pakistan menemukan bahwa mencuci tangan dengan sabun dapat mengurangi infeksi saluran pernapasan yang terkait dengan pneumonia pada anak-anak balita mencapai lebih dari 50%. Umur 1-4 tahun merupakan kelompok umur dengan infeksi saluran pernapasan yang paling sering terjadi yang mencapai sekitar 25%. Secara *gender*, tidak terdapat perbedaan yang mencolok antara laki-laki dan perempuan dalam konteks ini. Penyakit ini lebih banyak terjadi pada kelompok penduduk dengan indeks kepemilikan kelas menengah dan rendah.

3. Pneumonia atau radang paru-paru

Infeksi paru-paru yang disebabkan oleh kuman disebut pneumonia. Gejala pneumonia antara lain demam tinggi, batuk berdahak, sesak napas dan napas cepat (lebih dari 50 kali/menit).

4. Infeksi cacing, infeksi mata dan penyakit kulit.

Penelitian lain telah menunjukkan bahwa mencuci tangan dengan sabun dapat mencegah penyakit kulit, infeksi mata termasuk trakoma, dan cacingan terutama *ascariasis* dan *trichuriasis*.

C. Konsep Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

1. Deskripsi

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah tanaman perdu yang bisa tumbuh hingga 3,5 meter. Memiliki akar tunggang bulat kuning keputihan. Daunnya majemuk dengan pangkal bundar atau tumpul serta ujung yang juga tumpul dan tepi bergerigi dengan pertulangan daun menyirip. Bunga majemuk atau tunggal muncul pada ujung daun atau pada ketiak daun. Buah jeruk nipis berbentuk bulat dengan diameter 3,5 cm hingga 5 cm, awalnya hijau muda namun berubah menjadi kuning saat matang (Herbie, 2015).

Jeruk nipis atau dikenal juga dengan sebutan jeruk pecel merupakan buah dengan rasa asam yang kuat dengan kandungan air yang kuat dan aroma yang sedap (Kamus Pertanian Umum, 2013). Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah salah satu tanaman toga yang memiliki kegunaan di masyarakat, baik untuk bumbu masakan dan obat-obatan. Kulit jeruk nipis mengandung minyak atsiri dan sifat antibakteri dari air jeruk nipis yang dapat membantu mengatasi penyakit batuk. Kulit paling luar buah jeruk nipis yang memproduksi minyak atsirinya dapat digunakan sebagai bahan obat dan beberapa industri

makanan, sabun, minuman, kosmetik dan parfum menggunakan sedikit minyak atsiri sebagai pengharum serta dapat digunakan sebagai antibakteri, antirematik, anti racun, diuretik, antiseptik, antipiretik, anti jamur, ekspektoran, antihipertensi, insektisida, antivirus, tonik (Prastiwi & Ferdiansyah, 2017).

Beberapa penelitian menyebutkan minyak atsiri jeruk nipis memiliki fungsi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dan *Porphyromonas gingivalis* (Afrina dkk., 2016), (Prastiwi & Ferdiansyah, 2017).

2. Klasifikasi

Menurut Khanifah (2015) taksonomi jeruk nipis memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dycotiledoneae</i>
Bangsa	: <i>Rutales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus aurantifolia Swingle</i>



Gambar 3. Pohon dan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

(Sumber: Ernawati H.R., dkk. (2023))

3. Kandungan dan komposisi kimia jeruk nipis

Secara umum, mayoritas orang menyadari bahwa jeruk nipis adalah salah satu sumber vitamin C yang sangat baik. Tetapi, sebenarnya terdapat banyak komponen lain dalam buah ini, termasuk mineral. Untuk setiap 100 gram jeruk nipis, terdapat 27 mg vitamin C, 40 mg kalsium, 22 mg fosfor, 12,4 mg karbohidrat, 10,04 mg vitamin B, 0,6 mg zat besi, 0,1 mg lemak, 37 kalori, 0,8 mg protein, 86 mg air nutrisi lainnya hingga mencapai 100% (Puttie, 2019).

Jeruk nipis mengandung minyak atsiri, saponin dan komponen flavonoid. *Glikosida hedperidin, limonene, feladren* dan *siral* adalah beberapa zat yang ditemukan dalam minyak atsiri. Sari buah jeruk nipis mengandung sekitar 7% asam sitrat dan minyak atsiri *limonene*. Hasil dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa flavonoid adalah kandungan metabolit sekunder dalam jumlah signifikan pada jeruk nipis dengan bentuk C atau O-glikosida. Flavonoid dalam jeruk dapat dikelompokkan menjadi flavonon, flavon, dan flavonol. Flavonol ini merupakan derivat senyawa fenol dan biasanya mengandung 15 atom karbon yang membentuk konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang terhubung oleh tiga karbon yang mungkin membentuk cincin ketiga.

Flavonoid ini juga sering kali mengandung gugus hidroksil, tempat penambahan beragam gula yang memengaruhi kelarutan flavonoid dalam air (Prastiwi & Ferdiansyah, 2017).

Epikarp atau *flavedo* merupakan permukaan yang dimiliki buah jeruk nipis dengan tekstur yang kasar, berwarna hijau hingga kekuningan yang memiliki fungsi melindungi buah dari berbagai ancaman. Minyak asensial yang ditemukan di kelenjar lapisan ini memberikan aroma unik pada berbagai jenis jeruk. Pada bagian bawah kulit ini memiliki lapisan tebal dan berwarna putih. Lapisan ini disebut *mesokarp* atau *albedo*. Lapisan ini adalah hasil dari gabungan *epikarp* dan *mesokarp* yang membentuk kulit pada jeruk nipis. Berbagai zat flavonoid antara lain *rutin*, *nobiletin*, *tangeretin*, *hesperidin*, *naringenin*, *hesperitin* dan *naringin* juga terdapat pada kulit jeruk nipis (Savitri, 2018).

Butiran buah yang terdapat di dalam buah jeruk nipis terbagi menjadi segmen atau kantung jus (berbiji atau tidak berbiji) dan dipisahkan oleh endocarp (lapisan tebal). Pada bagian dalam buah jeruk nipis berisi bulir buah yang dipisahkan menjadi segmen atau kantung jus (dengan biji atau tanpa biji) dan dipisahkan oleh lapisan tebal yang dikenal dengan endocarp. Rasa khas jeruk nipis berasal dari gula yang larut, garam kalium, pektin, asam askorbat, serat dan asam organik lainnya (Puttie, 2019).

4. Khasiat

Menurut Saras (2023) khasiat jeruk nipis bagi kesehatan antara lain:

- a. Meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan melindungi dari infeksi

Vitamin C yang melimpah dalam jeruk nipis sangat penting untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh. vitamin C membantu pengembangan dan pemeliharaan sel kekebalan yang memperkuat pertahanan tubuh terhadap penyakit dan infeksi.

b. Menyegarkan dan membersihkan sistem pencernaan

Kandungan serat dalam jeruk nipis membantu meningkatkan fungsi pencernaan. Selain mencegah sembelit dan meningkatkan kesehatan sistem pencernaan, serat juga menurunkan risiko penyakit kanker usus besar dan penyakit divertikular.

c. Mengurangi risiko penyakit jantung dan mempertahankan tekanan darah yang sehat

Serat jeruk nipis, vitamin C dan komponen fitokimia dapat mendukung kesehatan jantung. Serat membantu mengontrol kolesterol darah, sementara zat fitokimia dan vitamin C melindungi jantung dari stress oksidatif dan peradangan.

d. Memberikan antioksidan untuk melawan radikal bebas dan mengurangi risiko terkena penyakit kronis

Flavonoid dan limonoid merupakan dua zat fitokimia yang ditemukan dalam jeruk nipis memiliki kualitas antioksidan. Antioksidan memberikan kontribusi dalam menurunkan kemungkinan terkena penyakit degenerative seperti kanker, penyakit jantung dan penuaan dini dengan melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif yang dihasilkan oleh radikal bebas.

e. Menyegarkan kulit

Jeruk nipis memiliki manfaat untuk kecantikan kulit. Kandungan vitamin C dalam jeruk nipis membantu mempromosikan produksi kolagen yang diperlukan untuk menjaga kekenyalan dan kecerahan kulit. Selain itu, jeruk nipis juga dapat membantu mengatasi masalah kulit seperti jerawat dan noda hitam.

- f. Membantu penyerapan zat besi

Asam sitrat yang terdapat pada jeruk nipis dapat membantu meningkatkan penyerapan zat besi dalam tubuh. Hal ini sangat penting bagi orang-orang yang mengalami masalah anemia atau kekurangan besi.

D. *Total Plate Count (TPC)*

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) dan *American Public Health Association (APHA)* menetapkan teknik *Total Plate Count (TPC)*. TPC menghitung koloni bakteri yang berkembang pada media agar menentukan jumlah mikroorganisme yang terdapat pada suatu produk.

Prinsip metode ini adalah bahwa jika sel mikroba masih hidup, maka mereka akan tumbuh dan membentuk koloni yang dapat terlihat tanpa perlu menggunakan mikroskop. Selanjutnya memilih teknik penyebaran kultur dalam cawan, kemudian jumlah koloni terhitung lalu hasilnya disesuaikan dengan *Standar Plate Count (SPC)* (Rizki dkk., 2022). Perhitungan jumlah angka kuman dilakukan media bernama *Plate Count Agar (PCA)*. Pada uji ini sering menggunakan metode hitung cawan (Yunita dkk., 2015).

Metode hitung cawan memiliki beberapa keunggulan yaitu sensitive dalam mengukur jumlah mikroba karena kepekaan dalam menghitung sel hidup saja, serta kemampuan mengisolasi dan mengidentifikasi mikroba berdasarkan ciri-ciri unik yang terdapat pada koloni yang terbentuk (Wijaya dkk., 2015).

Sedangkan kekurangan dari penggunaan metode hitung cawan yaitu (Widiadnyasari dkk., 2020):

1. Hasil perhitungan tidak akurat mewakili jumlah sel mikroba, karena banyak sel yang berdekatan yang mungkin bergabung membentuk koloni.

2. Perhitungan ini mencerminkan jumlah sebenarnya sel mikroba karena beberapa sel yang berdekatan bisa bergabung membentuk koloni.
3. Perbedaan dalam jenis media dan kondisi inkubasi bisa menghasilkan hasil yang bervariasi.
4. Mikroba yang diinginkan harus dapat tumbuh pada medium padat dan membentuk koloni yang padat dan terlihat jelas, tanpa menyebarkan diri, tanpa menyebar ke seluruh medium.
5. Membutuhkan persiapan dan beberapa hari waktu inkubasi untuk menghitung pertumbuhan koloni.
6. Sebelum koloni-koloni muncul di permukaan agar, diperlukan waktu inkubasi selama 24 jam.
7. Menyertakan lebih banyak peralatan gelas dalam penerapan Teknik bersama dengan prosedur yang lebih rumit dapat memunculkan risiko kesalahan dalam perhitungan karena kemungkinan kesalahan pada tahap pengenceran.

Menurut Sanders (2013) metode hitung cawan dapat dibedakan menjadi tiga cara yaitu:

1. Metode sebar

Dengan menggunakan menggunakan metode ini, mikroorganisme dalam volume sampel yang terbatas sering kali dipisahkan, membentuk koloni berbeda yang tersebar merata di seluruh permukaan. Hal ini juga dapat memudahkan proses perhitungan jumlah koloni yang berkembang (Sanders, 2013).

Metode pemupukkan dengan permukaan, langkah pertama adalah menuangkan agar steril ke dalam cawan petri steril dan membiarkan sampai membeku. Setelah pembekuan

sekitar 0,1 ml dari sampel yang telah diencerkan diambil menggunakan pipet dan ditempatkan di atas permukaan agar. Selanjutnya, sebatang batang gelas melengkung (*hockey stick*) dicelupkan ke dalam alkohol 95% dan dibakar hingga alkohol habis terbakar. Setelah batang gelas dingin, digunakan untuk meratakan sampel di atas medium agar dengan cara memutar cawan petri di atas permukaan meja. Selanjutnya inkubasi dilakukan seperti. Namun, penting untuk diingat bahwa jumlah sampel yang ditambahkan hanya sebanyak 0,1 ml bukan 1 ml. sehingga harus memperhitungkan pengenceran untuk mendapatkan *Total Count* (Hafsan, 2015).

2. Metode tuang (*pour plate*)

Metode tuang atau *pour plate* sering digunakan dalam menghitung jumlah mikroorganisme di dalam sampel. Caranya, sampel tersebut dituangkan ke dalam media pertumbuhan sebelum media tersebut meneras. Hasilnya, akan terbentuk koloni-koloni yang tersebar secara merata di seluruh permukaan media yang sudah mengeras, seperti yang dijelaskan oleh Sanders (2013). Dalam pengenceran sebanyak 1 ml atau 0,1 ml dimasukkan ke dalam cawan petri. Penting untuk memastikan bahwa waktu antara proses pengenceran hingga penambahan sampel ke dalam cawan petri tidak melebihi 30 menit. Selanjutnya, sekitar 15 ml agar cair steril yang telah didinginkan hingga suhu sekitar 50°C dimasukkan ke dalam cawan petri. Selama proses penambahan medium, cawan petri harus tetap tertutup dengan rapat untuk mencegah kontaminasi dari lingkungan luar. Setelah medium terisi penuh cawan-cawan petri tersebut harus digerakkan secara hati-hati untuk meratakan sampel mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan gerakan melingkar atau gerakan berbentuk angka delapan setelah memadat cawan-cawan tersebut dapat diinkubasi pada inkubator dengan posisi terbalik. Dalam metode pemupukan permukaan,

langkah awal adalah menyiapkan agar cawan petri dan kemudian menambahkan sekitar 0,1 ml sampel yang telah diencerkan ke permukaan agar-agar tersebut. Lalu diratakan menggunakan batang gelas melengkung yang steril.

Proses inkubasi dilakukan dengan suhu dan waktu tertentu sesuai dengan jenis mikroba yang dihitung. Pemilihan medium agar juga disesuaikan dengan jenis mikroba yang hendak dibiakkan. Selama tahap inkubasi, sel-sel yang masih hidup akan tumbuh membentuk koloni yang dapat diamati secara visual (Hafsan, 2015).

3. Teknik penanaman dengan goresan (streak)

Dalam metode penanaman goresan (streak) yang menggunakan ose yang telah dipanaskan diatas lampu spiritus, kemudian koloni dari setiap pengenceran diinokulasi pada media PCA sesuai dengan pengencerannya. Goresan pada media dilakukan secara berkelanjutan dengan pola zig-zag hingga menutupi permukaan agar kemudian jangan pijarkan pijarkan ose. Cawan petri kemudian diputar sekitar 180⁰C dan proses goresan dilanjutkan hingga seluruh permukaan agar tertutup (Hafsan, 2015).

Adapun perhitungan jumlah koloni dan syarat koloni yang ditentukan untuk dihitung sebagai berikut:

1. Pada umumnya jumlah koloni per *plate* yang dapat dihitung antara 30 sampai dengan 300 *Coloni Forming Unit* (CFU).
2. Koloni dengan ukuran besar, kecil, menjalar dianggap sebagai satu bakteri.
3. Satu koloni dihitung satu koloni.
4. Dua koloni yang saling bertumpuk maka dihitung satu koloni.
5. Jika terdapat koloni yang berhubungan dihitung satu koloni.

6. Dua koloni yang saling berhimpitan dan dapat dibedakan sehingga dihitung menjadi dua koloni.
7. Koloni yang memiliki ukuran yang lebih besar dari setengah luas cawan petri tidak akan diikutsertakan dalam perhitungan.
8. Koloni yang memiliki ukuran lebih kecil dari setengah luas cawan petri akan dihitung sebagai satu koloni.
9. Proses perhitungan dapat dilakukan secara manual dengan cara memberi tanda titik menggunakan spidol pada cawan petri untuk menandai koloni yang sudah dihitung. Alternatif lainnya adalah menggunakan alat perhitungan koloni (*Colony counter*).
10. Dengan mengalikan faktor pengenceran, kita akan mendapatkan jumlah bakteri per 1 gram atau 1 ml dari sampel tersebut.
11. Cara menghitung total angka kuman atau CFU (*Colony Forming Units*) per cm^2 .

$$\text{Angka Kuman (CFU/cm}^2\text{)} = \frac{(\Sigma(\text{jumlah koloni} - \text{kontrol}) \times \text{Pengenceran})}{\text{jumlah pengenceran}}$$

Standar perhitungan seperti *Standar Plate Count* (SOC) diperlukan untuk menghitung jumlah koloni. Standar ini memiliki peranan penting dalam pelaporan hasil analisis mikrobiologi dan penjelasan metode perhitungan koloni di cawan petri serta penggunaan data yang tepat. Metode SPC mengikuti persyaratan khusus berdasarkan prinsip statistic untuk mengurangi kesalahan perhitungan (Merta, 2021).