BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sampah

1. Pengertian sampah

Limbah padat atau sampah padat merupakan salah satu bentuk limbah yang terdapat lingkungan. Masyarakat awam biasanya hanya menyebutnya sampah saja. Bentuk, jenis, dan komposisi sampah padat sangat dipengaruhi oleh tingkat budaya masyarakat dan kondisi alamnya. Di Negara maju sangat peka terhadap masalah kesehatan lingkungan, sampah padat umumnya telah diatur pembuangannya sedemikian rupa, sehingga hampir setiap jenis sampah padat telah dipisahkan untuk memudahkan pengelolaannya. Adapun di Negara-negara berkembang, umumnya sampah padat masih dibuang tanpa ada usaha memisah-misahkan lebih dahulu, sehingga wadah-wadah penampungan sampah masih menampung sampah yang sangat heterogen. Berbagai sampah organic, nonorganic, dan logam masih menjadi satu, sehingga menyulitkan penanganannya (Sumantri, 2010).

2. Penggolongan sampah

Sampah yang ada dipermukaan bumi ini dapat berasal dari beberapa sumber berikut.

a. Pemukiman penduduk

Sampah disuatu pemukiman biasanya dihasilkan oleh satu atau beberapa keluarga yang tinggal dalam suatu bangunan atau asrama yang terdapat didesa atau dikota. Jenis sampah yang dihasilkan biasanya sisa

makanan dan bahan sisa proses pengolahan makanan atau sampah basah (*garbage*), sampah kering (*rubbish*), abu atau sampah sisa tumbuhan.

b. Tempat umum dan tempat perdagangan

Tempat umum adalah tempat yang memungkinkan banyak orang berkumpul dan melakukan kegiatan, termasuk juga tempat perdagangan. Jenis sampah yang dihasilkan dari tempat semacam itu dapat berupa sisa-sisa makanan (*garbage*), sampah kering, abu, sisa-sisa bahan bagunan, sampah khusus dan terkadang sampah berbahaya.

c. Sarana layanan masyarakat milik pemerintah

Sarana layanan masyarakat yang dimaksud di sini, antara lain, tempat hiburan dan umum, jalan umum, tempat parkir, tempat layanan kesehatan (misal, rumah sakit dan puskesmas), kompleks militer, gedung pertemuan, pantai tempat berlibur, dan sarana pemerintah yang lain. Tempat ini biasanya menghasilkan sampah khusus dan sampah kering.

d. Industri berat dan ringan

Dalam pengertian ini termasuk industri makanan dan minuman, industri kayu, industri kimia, industri logam, tempat pengolahan air kotor dan air minum, dan kegiatan industri lainnya, baik yang sifatnya distributif atau memproses bahan mentah saja. Sampah yang dihasilkan dari tempat ini biasanya sampah basah, sampah kering, sisa-sisa bangunan, sampah khusus dan sampah berbahaya.

e. Pertanian

Sampah dihasilkan dari tanaman atau binatang. Lokasi pertanian seperti kebun, lading, ataupun sawah menghasilkan sampah berupa bahan-bahan makanan yang telah membusuk, sampah pertanian, pupuk, maupun bahan pembasmi serangga tanaman (Sumantri, 2010).

3. Pengaruh dan manfaat sampah bagi kesehatan

Secara umum, pembuangan sampah yang tidak memenuhi syarat kesehatan dapat mengakibatkan tempat berkembang dan sarang dari serangga dan tikus, dapat menjadi sumber pengotoran tanah, sumber pencemaran air permukiman/udara, serta menjadi sumber dan tempat hidup dari kuman-kuman yang membahayakan kesehatan (Mubarak, 2012).

Manfaat sampah yang mudah membusuk dapat digunakan untuk pupuk/kompos, makanan ternak, gas bio dan menimbun tanah rawa. Manfaat sampah yang tidak dapat membusuk dengan dimanfaatkan lagi untuk keperluan lain yang sebelumnya diolah secara fisik/kimiawi terlebih dahulu (Mubarak, 2012).

4. Lingkungan tempat pembuangan akhir sampah

Lingkungan adalah komponen dalam paradigma keperawatan yang mempunyai implikasi sangat luas bagi kelangsungan hidup manusia, khususnya menyangkut status kesehatan seseorang. Lingkungan yang dimaksud dapat berupa lingkungan internal dan eksternal yang berpengaruh, baik secara langsung maupun tidak langsung pada individu; kelompok; atau masyarakat, seperti lingkungan yang bersifat biologis, psikologis, sosial,

kultural, spiritual, iklim, sistem perekonomian, politik, dan lain-lain. Jika keseimbangan lingkungan ini tidak dijaga dengan baik maka dapat menyebabkan berbagai macam penyakit (Mubarak, 2012).

Tempat Pembuangan Akhir (TPA) adalah sarana fisik untuk berlangsungnya kegiatan pembuangan akhir sampah. TPA merupakan mata rantai terakhir dari pengolahan sampah perkotaan sebagai sarana lahan untuk menimbun atau mengolah sampah. Proses sampah itu sendiri mulai dari timbulnya di sumber – pengumpulan – pemindahan/pengangkutan – pengolahan - pembuangan. Di TPA, sampah masih mengalami proses penguraian secara alamiah dengan jangka waktu panjang. Beberapa jenis sampah dapat terurai secara cepat, sementara yang lain lebih lambat sampai puluhan dan ratusan tahun seperti plastik. Hal ini memberi gambaran bahwa di TPA masih terdapat proses-proses yang menghasilkan beberapa zat yang dapat mempengaruhi lingkungan. Zat-zat tersebut yang mempengaruhi lingkungan itulah yang menyebabkan adanya bentuk-bentuk pencemaran (Dinata, Primasari dan Agha, 2015).

Petugas pengangkut sampah adalah orang yang melakukan proses penanganan sampah dengan cara pengumpulan dari masing-masing sumber sampah untuk diangkut ke tempat pembuangan sementara, atau langsung ke tempat pembuangan atau pemerosesan akhir tanpa melalui proses pemindahan.

B. Mikroorganisme

1. Pengertian

Mikroorganisme merupakan jasad hidup yang mempunyai ukuran sangat kecil. Setiap sel tunggal mikroorganisme memiliki kemampuan untuk melangsungkan aktivitas kehidupan antara lain dapat mengalami pertumbuhan, menghasilkan energi dan bereproduksi dengan sendirinya. Mikroorganisme memiliki fleksibilitas metabolisme yang tinggi karena mikroorganisme ini harus mempunyai kemampuan menyesuaikan diri yang besar sehingga apabila ada interaksi yang tinggi dengan lingkungan menyebabkan terjadinya konversi zat yang tinggi pula. Akan tetapi karena ukurannya yang kecil, maka tidak ada tempat untuk menyimpan enzim-enzim yang telah dihasilkan. Dengan demikian, enzim yang tidak diperlukan tidak akan disimpan dalam bentuk persediaan. Enzim-enzim tertentu yang diperlukan untuk pengolahan bahan makanan akan diproduksi bila bahan makanan tersebut sudah ada. Mikroorganisme ini juga tidak memerlukan tempat yang besar, mudah ditumbuhkan dalam media buatan, dan tingkat pembuakannya relative cepat. Oleh karena aktivitasnya tersebut, maka setiap mikoorganisme memiliki peranan dalam kehidupan, baik yang merugikan maupun yang menguntungkan (Fifendy, 2017). Jenis-jenis mikroorganisme antar lain :

a. Bakteri

Bakteri merupakan organisme uniseluler yang realtif sederhana. Karena materi genetik tidak diselimuti oleh selaput membran inti, sel bakteri disebut dengan sel prokariot. Secara umum, sel bakteri terdiri atas beberapa

bentuk, yaitu bentuk basil/batang, bulat atau spiral. Dinding sel bakteri mengandung kompleks karbohidrat dan protein yang disebut peptidoglikan. Bakteri umumnya bereproduksi dengan cara membelah diri menjadi dua sel yang berukuran sama (pembelahan biner). Untuk nutrisi, bakteri umumnya menggunakan bahan kimia organic yang dapat diperoleh secara alami dari organisme hidup atau organisme yang sudah mati. Beberapa bakteri dapat membuat makanan sendiri dengan proses boisintesis, sedangkan beberapa bakteri yang lain memperoleh nutrisi dari substansi organik.

b. Arkea

Sebagaimana bakteri, arkea merupakan sel prokariot. Akan tetapi, struktur dinding sel arkea umumnya tidak mengandung peptidoglikan. Arkea sering ditemukan dalam lingungan berkondisi ekstrem dan dapat dibagi dalam tiga kelompok. Pertama, kelompok metanogen, yang mengahsilkan metana sebagai produk buangan proses respirasi. Kedua, halofil ekstrem, yang hidup di lingkungan yang mengandung garam dalam jumlah yang ekstrem. Ketiga, termofil ekstrem, yang hidup dalam air yang mengandung belerang yang panas. Sampai saat ini belim diketahui dengan pasti apakah arkea dpat menyebabkan penyakit pada manusia.

c. Fungi

Fungi merupakan organisme eukariot yang sel-selnya mempunyai *nucleus* (inti sel) yang jelas/sejati dan mengandung materi genetik (DNA) yang dikelilingi oleh *membrane* inti sel. Fungi dapat berupa organisme uniselular, yang disebut dengan khamir, atau berupa organisme multiseliler, yang disebut dengan jamur. Fungi multiseluler yang berukuran besar

kemungkinan akan terlihat seperti tumbuhan. Komponen utama penyusun dinding sel fungi sejati adalah substansi yang disebut dengan kitin. Fungi dapat bereproduksi secara seksual dan aseksual. Organisme ini memperoleh makanan dengan menyerap bahan-bahan organic dari lingkungan hidupnya, misalnya dari tanah, air, atau tumbuhan dan tanaman yang mereka tumpangi.

d. Protozoa

Protozoa merupakan organisme eukariot uniseluler. Protozoa bergerak menggunakan pseupodia (perpanjangan dari sitoplasma organisme ini), flagel, atau silia. Protozoa mempunyai bentuk yang bervariasi dan hidup sebagai mahluk bebas atau sebagai parasit yang menyerap senyawa organic dari lingkungannya. Protozoa dapat bereproduksi secara seksual dan aseksual.

e. Alga

Alga merupakan organisme eukariot yang dapat berfotosintesis, mempunyai bentuk yang bervariasi, dan dapat bereproduksi secara seksual dan aseksual. Alga umumnya uniseluler. Dinding sel alga umumnya mengandung selulosa. Alga dapat hidup dengan baik di dalam air yang segar dan banyak mengandung garam, dalam tanah, dan dapat tumbuh bergabung dengan tumbuhan. Dalam proses fotosintesis, alga membutuhkan cahaya dan udara untuk memproduksi makanan dan untuk pertumbuhan, tetapi umumnya tidak membutuhkan senyawa organik dari lingkungan. Hasil proses fotosintesis alga berupa oksigen dan karbohidrat yang dibutuhkan oleh organisme lain, termasuk binatang. Alga berperan penting dalam keseimbangan alam dan ekosistem.

C. Bakteri

Dunia mikroorganisme terdiri dari berbagai kelompok jasad renik (makhluk halus), kebanyakan bersel satu atau uniseluler. Ciri utama yang membedakan kelompok organisme tertentu dari mikroba yang lain adalah organisasi bahan selulernya. Dunia mikroba terdiri dari Monera (Virus dan Sianobakteri), Protista, dan Fungi. Mikroorganisme tersebut di antaranya adalah bakteri, jamur, dan virus. Secara umum, bakteri, jamur, dan virus mempunyai morfologi dan struktur anatomi yang berbeda. Di dalam kehidupannya beberapa mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan virus selalu dipengaruhi oleh lingkungannya dan unutuk mempertahankan hidupnya mikrooranisme melakukan adaptasi dengan lingkungannya. Adaptasi ini dapat terjadi secara cepat serta bersifat sementara waktu dan dapat pula perubahan ini bersifat permanen sehingga mempengaruhi bentuk morfologiserta struktur anatomi dari bakteri, jamur dan virus. Untuk mengidentifikasi suatu morfologi dan struktur anatominya. Oleh karena itu kita perlu mengetahui bentuk morfologi dan struktur anatomi dari bakteri, jamur, dan virus. Bentuk umum mikroorganisme dapat juga berbentuk filamen atau serat, yakni rangkaian sel yang terdiri dari 2 sel atau lebih yang berbentuk rantai, seperti yang umum didapatkan pada fungi. Bentuk filamen pada kenyataannya dapat berupa filamen semu bila hubungan antara sel satu dengan lainnya tidak nyata atau tidak ada. Sedangkan bentuk filamen benar, kalau hubungan antara satu sel dengan lainnya terdapat hubungan yang jelas, baik hubungan secara morfologis (bentuk) maupun secara fisiologi (fungsi sel) (Fifendy, 2017).

Istilah flora mikroba normal menunjukan populasi mikroorganisme yang hidup di kulit dan membrane mukosa orang normal yang sehat. Kulit dan membrane mukosa selalu menjadi tempat bermukim berbagai mikroorganisme yang dapat dikelompokkan dalam dua grup yaitu (1) flora residen terdiri dari tipe mikroorganisme yang relatif tetap yang secara regular ditemukan di area tertentu pada umur tertentu, (2) flora transien terdiri dari mikroorganisme nonpatogen atau potensial patogen yang menghuni kulit atau membran mukosa selama beberapa jam, hari, atau minggu yang berasal dari lingkungan, tidak menimbulkan penyakit dan tidak menetap secara permanen pada permukaan. Namun, jika flora residen terganggu, mikroorganisme transien dapat berkolonisasi, proliferase dan menimbulkan penyakit (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2012).

Mikrobiota residen normal tidak berbahaya dan dapat bermanfaat di lokasi normalnya pada penjamu dan dalam keadaan yang tidak abnormalitas koinsiden. Mikrobiota residen normal dapat menimbulkan penyakit jika masuk ke lokasi asing dalam jumlah besar dan jika terdapat faktor predisporsisi (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2012).

Bakteri merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang tidak bisa dilihat oleh mata langsung. Bakteri memiliki bentuk bermacam-macam bentuk morfologi yaitu, bulat, batang dan spiral.

1. Bakteri bentuk Batang

Bakteri berbentuk batang dikenal sebagai basil. Kata basil berasal dari *bacillus* yang berarti batang. Bentuk basil dapat pula dibedakan atas :

a. Basil tunggal yaitu bakteri yang hanya berbentuk satu batang tunggal, misalnya *salmonella typhi*, penyebab penyakit tifus.
b. Diplobasil yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan dua-dua.
c. Streptobasil yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan dengan memanjang membentuk rantai misalnya *Bacillus anthracis* penyebab penyakit antraks.

2. Bakteri bentuk Bola

Bakteri bentuk bola dikenal sebagai *Coccus*, bakteri ini juga dapat dibedakan atas :

a. Monokokus, yaitu bakteri berbentuk bola tunggal, misalnya *Neisseria gonorrhoeae*, penyebab penyakit kencing nanah.
b. Diplokokus, yaitu bakteri berbentuk bola yang begandengan dua-dua, misalnya *Diplococcus pneumonia* penyebab penyakit pneumona atau radang paru-paru.
c. Sarkina, yaitu bakteri yang berbentuk bola yang berkelompok empat-empat sehingga bentuknya mirip kubus.
d. Streptokokus, yaitu bakteri bentuk bola yang berkelompok memanjang membentuk rantai.
e. Stafilokokus, yaitu bakteri berbentuk bola yang berkoloni membentuk sekelompok sel tidak teratur sehingga bentuknya mirip kumpulan buah anggur.

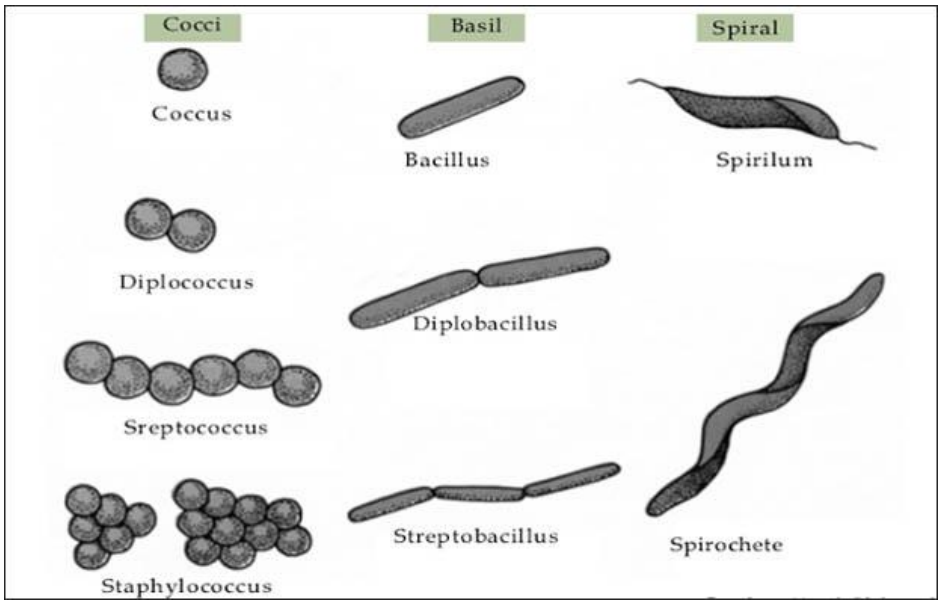
3. Bakteri bentuk spiral

Ada tiga macam bentuk spiral:

a) Spiral, yaitu golongan bakteri yang bentuknya seperti spiral misalnya *Spirillum*.

b) Vibrio, ini dianggap sebagai bentuk spiral tak sempurna, misalnya *Vibrio Cholera* penyebab penyakit kolera.

c) Spiroseta, yaitu golongan bakteri berbentuk spiral yang bersifat lentur. Pada saat bergerak, tubuhnya dapat memanjang dan mengerut (Fifendy, 2017).



Gambar 1. Bentuk-bentuk Bakteri (sumber: Ebiologi.com)

Bakteri tersusun atas dinding sel dan isi sel. Di sebelah luar dinding sel terdapat selubung atau kapsul. Di dalam sel bakteri tidak terdapat membrane dalam (endomembran) dan organel bermembran seperti kloroplas dan mitokondria. Struktur tubuh bakteri dari lapisan luar hingga bagian dalam sel yaitu flagella, dinding sel, membrane sel, mesosom, lembaran fotosintetik, sitoplasma, DNA, plasmid, ribosom, dan endospora (Fifendy, 2017).

Bakteri bereproduksi secara vegetatif dengan membelah diri secara biner. Pada lingkungan yang baik bakteri dapat membelah diri tiap 201 menit. Bakteri hanya dapat berkembang biak melalui cara aseksual dengan melibatkan pembelahan biner. Pembelahan biner adalah pembelahan langsung, tanpa melalui tahapan seperti mitosis. Setiap sel bakteri membelah menjadi dua. Pembuahan seksual tidak dijumpai pada bakteri, tetapi terjadi pemindahan materi genetik dari satu bakteri ke bakteri lain tanpa menghasilkan zigot. Peristiwa ini disebut proses paraseksual. Ada tiga proses paraseksual yang telah diketahui, yaitu transformasi, konjugasi dan transduksi. Bakteri memiliki tiga cara rekombinasi genetik diantaranya sebagai berikut :

a. Tranformasi

Perpindahan sedikit materi genetic berupa DNA atau gen dari sel bakteri yang satu ke sel bakteri yang lainnya dengan proses fisiologis yang kompleks.

b. Konjugasi

Persatuan dua individu atau dua filament untuk menentukan atau menyumbangkan materi genetik. Bergandengnya dua bakteri (+) dan (-) dengan membentuk jembatan untuk pemindahan materi genetik.

c. Transduksi

Pemindahan materi genetik dengan perantara bakteriofag. Pertumbuhan merupakan proses perubahan bentuk yang semula kecil kemudian menjadi besar. Pertumbuhan menyangkut pertambahan volume dari individu itu sendiri. Pertumbuhan pada umumnya tergantung pada kondisi bahan makanan dan juga lingkungan. Apabila kondisi makanan dan lingkungan cocok untuk mikroorganisme tersebut, maka mikroorganisme akan tumbuh dengan waktu yang relatif singkat dan sempurna. Pertumbuhan merupakan proses bertambahnya ukuran atau subtansi atau masa zat suatu organisme, misalnya kita makhluk makro ini dikatakan tumbuh ketika bertambah tinggi, bertambah besar atau bertambah berat. Pada organisme bersel satu pertumbuhan lebih diartikan sebagai pertumbuhan koloni, yaitu pertambahan jumlah koloni, ukuran koloni yang semakin besar atau subtansi atau massa mikroba dalam koloni tersebut semakin banyak, pertumbuhan pada mikroba diartikan sebagai pertambahan jumlah sel mikroba itu sendiri (Fifendy, 2017).

Pertumbuhan mikroorganisme tergantung dari tersedianya air. Bahan-bahan yang terlarut dalam air, yang digunakan oleh mikroorganisme untuk membentuk bahan sel dan memperoleh energi, adalah bahan makanan. Tuntutan berbagai mikroorganisme yang menyangkut susunan larutan makanan dan persyaratan lingkungan tertentu sangat berbeda-beda. Oleh karena itu diperkenalkan banyak resep untuk membuat media baik untuk mikroorganisme (Fifendy, 2017).

Pertumbuhan mikroba dalam suatu medium mengalami fase-fase yang berbeda, yang berturut-turut disebut dengan fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Pada fase kematian eksponensial tidak diamati pada kondisi umum pertumbuhan kultur bakteri, kecuali bila kematian dipercepat dengan penambahan zat kimia toksik, panas atau radiasi. Dalam pertumbuhannya setiap makhluk hidup membutuhkan nutrisi yang mencukupi serta kondisi lingkungan yang mendukung demi proses pertumbuhan tersebut, termasuk juga bakteri. Pertumbuhan bakteri pada umumnya akan dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Pengaruh faktor ini akan memberikan gambaran yang memperlihatkan peningkatan jumlah sel yang berbeda dan pada akhirnya memberikan gambaran pula terhadap kurva pertumbuhannya (Fifendy, 2017).

Bakteri yang diinokulasi dalam medium yang sesuai dan pada keadaan yang optimum bagi pertumbuhannya, maka terjadi kenaikan jumlah yang sangat tinggi dalam waktu yang relatif pendek. Pada beberapa spesies, populasi (panen sel terbanyak yang dapat diperoleh) tercapai dalam waktu 24 jam, populasinya dapat mencapai 10 sampai 15 milyar sel bakteri per milliliter. Perbanyakan ini disebabkan oleh pembelahan sel secara aseksual. Fase pertumbuhan bakteri adalah sebagai berikut :

a) Fase *lag* adalah fase di mana bakteri beradaptasi dengan lingkngannya dan mulai bertambah sedikit demi sedikit.
b) Fase *logaritmik* adalah fase dimana pembiakan bakteri berlangsung paling cepat. Jika ingin mengadakan piaraan yang cepat tumbuh, maka bakteri dalam fase ini baik sekali untuk dijadikan inokulum.

c) Fase *stationer* adalah fase di mana jumlah bakteri yang berkembang biak sama dengan jumlah bakteri yang mengalami kematian.

d) Fase *autolissi* (kematian) adalah fase di mana jumlah bakteri yang mati semakin banyak, melebihi jumlah bakteri yang berkembang biak. Fase kematian ditandai dengan cepat merananya koloni dan jumlah bakteri yang mati senantiasa bertambah (Fifendy, 2017).

D. Pewarnaan Sederhana

Untuk mengamati bentuk atau ciri-ciri suatu mikroba menggunakan mikroskop, dapat digunakan dua cara yaitu: (1) dengan cara mengamati sel-sel mikroba yang masih hidup tanpa diwarnai, yaitu dengan cara membuat preparat basah, dan (2) dengan cara mengamati sel-sel mikroba yang telah mati dan diwarnai. Kebanyakan sel bakteri tidak berwarna sehingga jika dilarutkan di dalam air dan dilihat di bawah mikroskop tidak memperlihatkan warna yang kontras dengan medium di sekelilingnya. Warna sel mikroba dapat dibuat lebih kontras dan lebih mudah dilihat di bawah mikroskop dengan cara mewarnai sel tersebut dengan suatu zat warna. Beberapa zat yang digunakan untuk mewarnai bakteri juga dapat digunakan untuk mengamati struktur bagian dalam sel. Keuntungan lain dari pewarnaan, terutama untuk bakteri yang mempunyai sel dengan ukuran relatif kecil, adalah karena bakteri yang diwarnai akan lebih mudah dilihat di bawah mikroskop menggunakan lensa objektif minyak imersi yang mempunyai tingkat pembesaran relatif tinggi (Artama, 2011).

Dalam pewarnaan mikroba, dapat digunakan satu jenis zat warna. Cara ini disebut pewarnaan sederhana. Zat-zat warna yang biasa digunakan untuk pewarnaan sederhana misalnya biru metilen, fuchsin basa, atau violet kristal. Zat-zat warna tersebut bekerja dengan baik dalam mewarnai bakteri karena zat-zat tersebut mengandung gugusan fungsional yang dapat membentuk warna (khromofor) dan bermuatan positif. Oleh karena sel-sel bakteri pada umumnya bermuatan negatif, maka sel-sel tersebut dapat mengikat khromofor. Zat-zat warna demikian disebut zat warna basa. Zat-zat warna yang mengandung khromofor yang bermuatan negatif (*anion*), disebut zat warna asam, dan tidak dapat digunakan untuk mewarnai bakteri karena tidak dapat diikat oleh sel bakteri (Artama, 2011).

Pewarnaan gram merupakan salah satu cara pewarnaan yang paling sering dilakukan dalam pekerjaan mikrobiologi. Cara pewarnaan ini diciptakan pertama kali tahun 1884 oleh seorang ahli bakteriologi yang bernama Christian Gram. Cara pewarnaan ini merupakan cara pewarnaandiferensial, di mana dengan cara ini bakteri dapat dibedakan menjadi dua grup, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Perbedaan dari kedua grup bakteri tersebut disebabkan oleh perbedaan dalam lapisan-lapisan dinding selnya. Dalam pewarnaan gram dan pewarnaan diferensial lainnya, perbedaan dari bakteri disebabkan oleh perbedaan dalam kecepatan melepaskan zat warna oleh sel. Zat warna kedua yang digunakan setelah sel dicuci dengan larutan pencuci disebut "*counterstain*" yang berbeda warnanya dari zat warna pertama. Sel-sel yang tidak dapat segera melepaskan zat warna setelah pencucian akan tetap berwarna seperti zat warna pertama, sedangkan

sel-sel yang dapat segera melepaskan zat warna setelah pencucian akan mengikat zat warna kedua (Artama, 2011).

Dalam perwarnaan gram, mula-mula sel bakteri diwarnai dengan zat warna basa yaitu violet kristal, diikuti perlakuan menggunakan suatu mordant yaitu larutan yodium (lugol). Sel kemudian dicuci dengan alkohol untuk menghilangkan violet kristal. Setelah dicuci dengan air, kemudian diwarnai dengan "*counterstain*" yaitu safranin. Sel-sel yang tidak dapat melepaskan warna dan akan tetap berwarna seperti warna kristal violet, yaitu biru-ungu disebut bakteri gram-positif sedang sel-sel yang dapat melepaskan violet kristal dan mengikat safranin sehingga berwarna merah-merah muda disebut bakteri gram-negatif (Artama, 2011).