

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Mencuci Tangan

1. Pengertian

Mencuci tangan adalah proses menggosok kedua permukaan tangan dengan kuat secara bersamaan menggunakan zat yang sesuai dan dibilas dengan air dengan tujuan menghilangkan mikroorganisme sebanyak mungkin juga mengungkapkan bahwa cuci tangan adalah satu satunya prosedur terpenting dalam pengendalian infeksi nosokomial. Menurut WHO (2009) cuci tangan adalah suatu prosedur/ tindakan membersihkan tangan dengan menggunakan sabun dan air yang mengalir atau *hand rub* dengan antiseptik (berbasis alkohol). Potter (2015) menjelaskan bahwa cuci tangan adalah aktifitas membersihkan tangan dengan cara menggosok dan menggunakan sabun serta membilasnya pada air yang mengalir. Mencuci tangan adalah proses menggosok kedua permukaan tangan dengan kuat secara bersamaan menggunakan zat yang sesuai dan dibilas dengan air dengan tujuan menghilangkan mikroorganisme sebanyak mungkin juga mengungkapkan bahwa cuci tangan (juga dianggap *hygiene* tangan) adalah satu satunya prosedur terpenting dalam pengendalian infeksi nosokomial (Potter, 2015).

2. Tujuan

Tujuan mencuci tangan menurut Depkes RI (2008) adalah salah satu unsur pencegahan penularan infeksi. Menurut Kristia (2014) mencegah kontaminasi silang (orang ke orang atau benda terkontaminasi ke orang) suatu penyakit atau perpindahan kuman.

3. Manfaat cuci tangan

Mencuci tangan menggunakan sabun yang dipraktikkan secara tepat dan benar dapat mencegah berjangkitnya beberapa penyakit. Mencuci tangan dapat mengurangi risiko penularan berbagai penyakit termasuk flu burung, cacingan, influenza, hepatitis A, dan diare terutama pada bayi dan balita. Anak yang mencuci tangan tanpa menggunakan sabun berisiko 30 kali lebih besar terkena penyakit tipoid, dan yang terkena penyakit tipoid kemudian tidak pernah atau jarang mencuci tangan menggunakan sabun, maka akan berisiko mengalami penyakit tipoid empat kali lebih parah daripada yang terbiasa mencuci tangan menggunakan sabun. Selain itu, manfaat positif lain dari mencuci tangan adalah tangan menjadi bersih dan wangi (Kemenkes, 2016).

Menurut Maryunani (2013) dari mencuci tangan kita akan mendapatkan manfaat yaitu:

- a. Membunuh kuman penyakit yang ada di tangan.
- b. Mencegah penularan penyakit seperti diare, kolera, desentri, typhus, kecacingan, penyakit kulit, ISPA, flu burung.
- c. Mencegah terjadinya keracunan makanan karena tangan penjamah telah memegang bahan kimia.
- d. Tangan menjadi bersih dan bebas dari kuman.

4. Indikasi cuci tangan

Indikasi waktu untuk mencuci tangan menurut Kemenkes RI (2013) adalah:

- a. Setiap kali tangan kita kotor (setelah memegang uang, binatang, berkebun dll)
- b. Setelah Buang Air Besar (BAB)
- c. Sebelum memegang makanan

- d. Setelah bersin, batuk, membuang ingus
- e. Setelah pulang dari bepergian
- f. Setelah bermain

5. Cuci tangan enam langkah dengan *hand rub* atau *hand sanitizer*

Teknik mencuci tangan biasa adalah membersihkan tangan dengan cairan berbasis alkohol, dilakukan sesuai lima waktu. Peralatan yang dibutuhkan untuk mencuci tangan *hand-rub* hanya cairan berbasis alkohol sebanyak 2-3 ml. Prosedur cuci tangan *hand-rub* sebagai berikut (WHO, 2009):



Sumber: WHO, 2009

Gambar 1. Cara Mencuci Tangan dengan *Hand Rub*

- 1) Melepaskan semua benda yang melekat pada daerah tangan
- 2) Cairan berbasis alkohol ke telapak tangan 2-3 ml.

- 3) Melakukan gerakan tangan, mulai dari meratakan *hand sanitizer* dengan kedua telapak tangan.
- 4) Kedua punggung telapak tangan saling menumpuk secara bergantian.
- 5) Bersihkan telapak tangan dan sela-sela jari seperti gerakan menyilang.
- 6) Membersihkan ujung-ujung kuku bergantian pada telapak tangan.
- 7) Membersihkan ibu jari secara bergantian.
- 8) Posisikan jari-jari tangan mengerucut dan putar kedalam beralaskan telapak tangan secara bergantian. Lakukan semua prosedur diatas selama 20-30 detik.

B. Hand Sanitizer

1. Pengertian

Gel pembersih tangan atau *hand sanitizer* ini juga dikenal dengan detergen sintetis cair pembersih tangan yang merupakan sediaan pembersih yang dibuat dari bahan aktif detergen sintetis dengan atau tanpa penambahan zat lain yang tidak menimbulkan iritasi pada kulit. Banyak dari gel ini berasal dari bahan beralkohol atau etanol yang dicampurkan bersama dengan bahan pengental, misal karbomer, gliserin, dan menjadikannya serupa *jelly*, *gel*, atau busa untuk memudahkan penggunaan dan menghindari perasaan kering karena penggunaan alkohol. Berdasarkan hasil penelitian *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) pada tahun 2013 terbukti bahwa *hand sanitizer* dapat membunuh bakteri. *Hand sanitizer* terbukti lebih ampuh untuk membunuh bakteri dibandingkan dengan mencuci tangan dengan air mengalir saja. Hal ini dikarenakan tidak adanya zat antiseptik yang digunakan. Zat antiseptik adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga menyebabkan kematian sel

bakteri. *Hand sanitizer* ampuh untuk membunuh bakteri apabila kandungan alkohol di dalamnya lebih dari 60%, apabila kandungan alkohol dibawah 60% maka *hand sanitizer* tersebut tidak dapat secara efektif membunuh kuman yang ada di tangan (CDC, 2013).

2. Kandungan *hand sanitizer*

Secara umum *hand sanitizer* mengandung: alkohol 60-95%, *benzalkonium chloride*, *benzethonium chloride*, *chlorhexidine*, *gluconate*, *chloroxylenol*, *clofucarang*, *hexachlorophene*, *hexylresocarcinol*, *iodine*. (Benjamin, 2010). Menurut CDC, *hand sanitizer* terbagi menjadi dua yaitu mengandung alkohol dan tidak mengandung alkohol. *Hand sanitizer* dengan kandungan alkohol antara 60-95% memiliki efek anti mikroba yang baik dibandingkan dengan tanpa kandungan alkohol (Purwantiningsih, 2015).

3. Manfaat *hand sanitizer*

Adapun kelebihan *hand sanitizer* dapat membunuh kuman dalam waktu relatif cepat, karena mengandung senyawa alkohol (etanol, propanol, isopropanol) dengan konsentrasi \pm 60% sampai 80% dan golongan fenol (klorheksidin, triklosan). Senyawa yang terkandung dalam *hand sanitizer* memiliki mekanisme kerja dengan cara mendenaturasi dan mengkoagulasi protein sel kuman. Kandungan aktif yang sering ditemukan pada *hand sanitizer* dipasaran adalah 62% *etil alcohol*. Kandungan tersebut bermanfaat dalam membunuh bakteri. Dalam penelitian yang dilakukan oleh *Liu et al*, menyatakan bahwa efektivitas dari suatu *hand sanitizer* ditentukan oleh berbagai faktor seperti, jenis antiseptik yang kita gunakan dan banyaknya, metode penelitian dan target organisme (*Liu et al.*, 2010).

C. Bakteri

1. Pengertian bakteri

Bakteri adalah nama sekelompok mikroorganisme yang termasuk *prokariotik* yang bersel satu. Istilah bakteri dari bahasa Yunani dari kata *bakterion* yang berarti tongkat atau batang dan umumnya tidak berklorofil. Berkembang biak dengan membelah diri dan bahan-bahan genetiknya tidak terbungkus dalam membran inti (Holderman *et al.*, 2017).

Bakteri mempunyai struktur sel yang penting, antara lain :

- a. Kapsul merupakan struktur polisakarida longgar yang melindungi sel dari *fagositosis* dan *desikasi* (kekurangan).
- b. Lipopolisakarida melindungi bakteri gram negatif dari lisis yang diperantarai oleh komplemen. Merupakan *stimulator* pelepasan *sitokin* yang *poten*.
- c. *Fimbria* atau *Pili* yaitu bulu-bulu tipis khusus yang membantu adhesi ke sel pejamu dan *kolonisasi*. *Eschericia Coli* yang *uropatogenik* memiliki *fimbria terspesialisasi* (*fimbria P*) yang terikat ke reseptor *manosa* pada sel epitel ureter. Antigen *fimbria* sering bersifat *imunogenik* tetapi bervariasi antar *stain* sehingga dapat terjadi infeksi ulang (misalnya pada *Neisseria gonorrhoeae*).
- d. *Flagela* yaitu organ pergerakan (*lokomasi*) bakteri, membuat organisme mampu untuk menemukan sumber nutrisi dan menembus mukus pejamu. *Flagela* dapat tunggal atau *multipel*, dapat berada di salah satu ujung sel (*polar*) atau di banyak tempat (*peritrik*). Pada beberapa spesies (misalnya *Treponema*), flagela terfiksasi secara kuat di dalam dinding sel bakteri.

- e. Lendir yaitu materi polisakarida yang disekresikan oleh beberapa bakteri yang tumbuh dalam lapisan *biofilm*, melindungi organisme tersebut dari serangan imunitas dan *eradikasi* oleh *antibiotic* (Holderman *et al.*, 2017).

2. Faktor pertumbuhan bakteri

Adapun faktor-faktor yang memengaruhi pertumbuhan bakteri (Radji, 2010) yaitu:

a. Suhu

Sebagian besar bakteri tumbuh optimal pada suhu tubuh manusia. Tetapi, beberapa bakteri dapat tumbuh dalam lingkungan ekstrem yang berada di luar batas pertahanan organisme eukariot. Berdasarkan perbedaan suhu pertumbuhan, bakteri dapat digolongkan menjadi tiga bagian besar, yaitu:

- 1) Psikrofil, hidup di udara dingin.
- 2) Mesofil, hidup di udara bersuhu sedang.
- 3) Termofil, hidup di udara panas.

Sebagian besar bakteri tumbuh hanya di dalam kisaran suhu pertumbuhan minimum dan maksimum. Bakteri biasanya tidak dapat tumbuh optimal di luar suhu tersebut. Setiap bakteri tumbuh pada suhu berikut ini:

- 1) Minimum, suhu terendah bakteri masih dapat tumbuh.
- 2) Optimum, suhu bakteri dapat tumbuh subur.
- 3) Maksimum, suhu tertinggi bakteri masih dapat tumbuh.

Dengan membuat grafik pertumbuhan pada kisaran suhu tertentu, kita dapat melihat bahwa pertumbuhan bakteri pada suhu optimum biasanya sangat tinggi. Hal ini terjadi karena suhu yang lebih tinggi akan menginaktifkan sistem enzimatik di

dalam sel bakteri. Berdasarkan suhu pertumbuhan, dikenal bakteri psikrofil, bakteri psikrotrof, bakteri mesofil, dan bakteri termofil.

b. pH

pH adalah derajat keasaman suatu larutan. Kebanyakan bakteri tumbuh subur pada pH 6,5-7,5. Sangat sedikit bakteri yang dapat tumbuh pada pH asam (di bawah pH 4). Hal inilah yang menyebabkan makanan tertentu dapat diawetkan dengan penambahan suasana asam atau secara fermentasi. Beberapa bakteri disebut dengan asidofil karena dapat menoleransi keasaman. Salah satu tipe bakteri kemoautotrof yang ditemukan di dalam drainase air di tambang tembaga dan pabrik oksidasi sulfur dari asam sulfat dapat bertahan pada pH 1. Jamur dan ragi dapat tumbuh pada rentang pH bakteri, tetapi pH optimum ragi dan jamur biasanya di bawah bakteri, sekitar pH 5-6. Alkalinitas juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi jarang digunakan untuk upaya pengawetan makanan.

Ketika dibiakkan di laboratorium, bakteri sering memproduksi asam yang biasanya berpengaruh pada pertumbuhan bakteri itu sendiri. Untuk menetralkan asam dan mempertahankan pH, dapar kimia dapat ditambahkan ke dalam media. Pepton dan asam amino bekerja sebagai dapar dalam beberapa media perbenihan. Banyak media yang juga mengandung garam fosfat sebagai dapar. Garam fosfat tidak memengaruhi bakteri bahkan mengandung fosfor sebagai nutrisi.

c. Faktor kimia

Selain air, unsur penting yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme adalah unsur kimia, antara lain karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, dan unsur kelumit (Cu, Zn dan Fe). Karbon merupakan unsur penting dalam setiap makhluk hidup. Setengah berat kering suatu bakteri adalah karbon. Kemoheterotrof

mendapatkan sebagian besar karbon dari sumber energi yang diperoleh, seperti protein, karbohidrat dan lemak, sedangkan kemoautotrof dan fotoautotrof mendapatkan unsur karbon dari CO₂.

Beberapa unsur lain juga diperlukan oleh bakteri untuk sintesis materi seluler yaitu nitrogen dan sulfur untuk sintesis protein; nitrogen dan fosfor untuk sintesis DNA, RNA, dan ATP. Molekul ATP sangat penting untuk penyimpanan dan transfer energi kimia di dalam sel. Kandungan nitrogen kurang lebih 14% berat kering suatu sel bakteri, sedangkan sulfur dan fosfor sekitar 4%.

Bakteri menggunakan nitrogen terutama untuk membentuk gugus amino berupa asam amino dan protein. Sebagian besar bakteri mampu menguraikan protein dan menyusun kembali asam amino menjadi protein baru yang dibutuhkannya. Bakteri lainnya menggunakan nitrogen dari ion amonium (NH₄⁺), yang sudah dalam keadaan tereduksi yang terdapat pada bahan-bahan seluler. Bahkan ada pula bakteri yang mampu memanfaatkan nitrogen yang berasal dari ion nitrat, NO₃⁻ dalam larutan.

Beberapa jenis mikroorganisme dapat menggunakan nitrogen berbentuk gas (N₂) langsung dari atmosfer. Proses ini dinamakan fiksasi nitrogen. Sebagian besar mikroorganisme yang dapat memanfaatkan N₂ dapat hidup bebas di dalam tanah, tetapi ada juga yang bekerja sama secara simbiosis dengan akar tumbuhan kacang-kacangan seperti semanggi, kedelai, buncis, dan kacang tanah. Nitrogen yang difiksasi pada proses simbiosis dimanfaatkan, baik oleh tumbuhan maupun oleh bakteri.

Sulfur digunakan untuk sintesis asam amino dan vitamin (misalnya, tiamin dan biotin). Fosfor merupakan unsur penting untuk sintesis asam nukleat dan fosfolipida untuk membran sel.

Bakteri juga membutuhkan sejumlah kecil unsur mineral (misalnya K, Mg, Ca, Fe, Cu, Zn, dan Mo) sebagai kofaktor, yang merupakan unsur penting untuk memfungsikan beberapa jenis enzim. Unsur-unsur ini terdapat dalam air dan komponen media lain secara alamiah.

d. Oksigen

Berbagai bentuk kehidupan di bumi mempunyai sistem metabolisme yang menggunakan oksigen untuk respirasi. Proses ini menghasilkan sejumlah besar energi sekaligus menetralkan gas-gas beracun.

Mikroorganisme yang menggunakan oksigen menghasilkan lebih banyak energi dari nutrisi yang diperoleh daripada mikroba yang tidak menggunakan oksigen (anaerob). Bakteri yang membutuhkan oksigen untuk hidup disebut bakteri aerob obligat. Bakteri aerob obligat memiliki kelemahan, yaitu oksigen sangat sedikit terlarut di dalam media dan air di lingkungan bakteri tersebut. Oleh sebab itu, kebanyakan bakteri aerob telah berkembang sehingga mempunyai kemampuan untuk bertumbuh tanpa ada oksigen. Mikroorganisme seperti ini disebut anaerob fakultatif. Dengan kata lain, bakteri anaerob fakultatif dapat menggunakan oksigen bila ada oksigen, tetapi dapat terus bertumbuh dengan menggunakan proses fermentasi atau respirasi anaerob apabila oksigen tidak cukup tersedia. Walaupun demikian, efisiensi produksi energi berkurang ketika tidak ada oksigen (Radji, 2010).

D. Angka Lempeng Total

Angka Lempeng Total (ALT) merupakan jumlah mikroba aerob mesofilik per gram atau per milliliter contoh yang ditentukan melalui metode standar. Angka Lempeng total merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada dalam suatu sampel. Pada pengujian angka kuman menggunakan media Plate Count Agar (PCA) sebagai media padatnya. Pada uji ini, metode yang sering digunakan yaitu hitung cawan. Prinsip dari metode hitung cawan adalah sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, kemudian sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan kemudian dihitung tanpa menggunakan mikroskop (Yunita dkk., 2015).

Kelebihan dari penggunaan metode hitung cawan yaitu sensitif untuk menghitung jumlah mikroba dikarenakan hanya sel yang masih hidup yang dihitung, beberapa jenis mikroba dapat dihitung sekaligus, serta dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari mikroba yang mempunyai penampakan spesifik (Wijaya dkk., 2015).

Sedangkan kekurangan dari penggunaan metode hitung cawan meliputi (Waluyo, 2016):

1. Hasil perhitungan tidak menunjukkan jumlah sel mikroba yang sebenarnya, karena beberapa sel yang berdekatan mungkin membentuk satu koloni.
2. Medium dan kondisi inkubasi yang berbeda mungkin menghasilkan nilai yang berbeda pula.
3. Mikroba yang ditumbuhkan harus dapat tumbuh pada medium padat dan membentuk koloni yang kompak dan jelas, tidak menyebar.

4. Memerlukan persiapan dan waktu inkubasi beberapa hari sehingga pertumbuhan koloni dapat dihitung.
5. Memerlukan inkubasi selama 24 jam sebelum koloni-koloni terbentuk pada permukaan agar.
6. Menggunakan peralatan gelas yang lebih banyak untuk melakukan teknik ini serta prosedur yang lebih banyak dapat menimbulkan kesalahan penghitungan akibat kesalahan pada pengenceran.

Keuntungan dari metode pertumbuhan agar atau metode uji ALT adalah dapat mengetahui jumlah mikroba yang dominan. Keuntungan lainnya dapat diketahui adanya mikroba jenis lain yang terdapat dalam sampel.

Adapun kelemahan dari metode ini adalah:

1. Kemungkinan terjadinya koloni yang berasal lebih dari satu sel mikroba, seperti pada mikroba yang berpasangan, rantai atau kelompok sel.
2. Kemungkinan ini akan mem-perkecil jumlah sel mikroba yang sebenarnya. Kemungkinan ada jenis mikroba yang tidak dapat tumbuh karena penggunaan jenis media agar, suhu, pH, atau kandungan oksigen selama masa inkubasi.
3. Kemungkinan ada jenis mikroba tertentu yang tumbuh menyebar di seluruh permukaan media agar sehingga menghalangi mikroba lain. Hal ini akan mengakibatkan mikroba lain tersebut tidak terhitung.
4. Penghitungan dilakukan pada media agar yang jumlah populasi mikroba antara 30-300 koloni. Bila jumlah populasi kurang dari 30 koloni akan menghasilkan peng-hitungan yang kurang teliti secara statistik, namun bila lebih dari 300 koloni akan menghasilkan hal yang sama karena terjadi persaingan diantara koloni.

5. Penghitungan populasi mikroba dapat dilakukan setelah masa inkubasi yang umumnya membutuhkan waktu 24 jam atau lebih (Sundari, 2019).

Metode hitung cawan dapat dibedakan atas tiga cara, yaitu:

1. Metode sebar (*spread plate*)

Metode ini biasanya digunakan untuk memisahkan mikroorganisme yang terkandung dalam volume sampel kecil, sehingga menghasilkan pembentukan koloni diskrit yang didistribusikan secara merata di seluruh permukaan. Selain itu, dapat mempermudah menghitung jumlah koloni yang tumbuh (Sanders, 2012).

Pada permukaan dengan metode permukaan, agar steril terlebih dahulu dituangkan kedalam cawan petri steril dan dibiarkan membeku. Setelah membeku dengan sempurna kemudian sebanyak 0,1 ml contoh yang telah diencerkan dipipet pada permukaan agar tersebut. Sebuah batang gelas melengkung (*hockey stick*) dicelupkan kedalam *alcohol 95 %* dan dipijarkan sehingga alkohol habis terbakar. Setelah dingin, batang gelas tersebut digunakan untuk meratakan contoh diatas medium agar dengan cara memutar cawan petri di atas meja. Selanjutnya, inkubasi dilakukan seperti pada metode tuang. Tetapi harus di ingat bahwa jumlah contoh yang ditumbuhkan hanya 0,1 ml tidak boleh 1 ml. Jadi harus dimasukkan ke dalam perhitungan pengenceran untuk mendapatkan *Total Count* (Hafsan, 2015).

2. Metode tuang (*pour plate*)

Metode ini sering digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme dalam sampel campuran, yang ditambahkan ke media agar cair sebelum media memadat. Proses ini menghasilkan koloni yang tersebar merata di seluruh medium padat (Sanders, 2012). Dari pengenceran sebanyak 1 ml atau 0,1 ml dimasukkan kedalam cawan petri, sebaiknya waktu antara dimulainya pengenceran sampai

menuangkan ke dalam cawan petri tidak boleh lebih dari 30 menit. Kemudian ke dalam cawan petri tersebut dimasukkan agar cair steril yang telah didinginkan sampai 50°C sebanyak kira-kira 15 ml. selama penuangan medium, tutup cawan tidak boleh dibuka terlalu lebar untuk menghindari terjadi kontaminasi dari luar. Setelah penuangan cawan petri segera digerakkan secara hati-hati agar sel-sel mikroba menyebar secara merata. Hal ini dilakukan dengan gerakan melingkar atau gerakan seperti angka delapan, setelah agar memadat, cawan-cawan tersebut dapat diinkubasikan di dalam inkubator dengan posisi terbalik. Pada pemupukan dengan metode permukaan terlebih dahulu dibuat agar cawan tersebut kemudian sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan dipipet pada permukaan agar-agar tersebut. Kemudian diratakan dengan batang gelas melengkung yang steril. Jumlah koloni dalam sampel dapat dihitung dengan cara :

$$\text{Koloni tiap mL} = \frac{\sum \text{jumlah koloni} - 1 \times F. \text{pengenceran}}{\text{jumlah pengenceran}}$$

Inkubasi dilakukan pada suhu dan waktu tertentu sesuai dengan jenis mikroba yang akan dihitung. Medium agar yang digunakan juga disesuaikan dengan jenis mikroba yang akan ditumbuhkan. Selama inkubasi, sel-sel yang masih hidup akan tumbuh dan membentuk koloni yang dapat terlihat langsung oleh mata (Hafsan, 2015).

3. Teknik Penanaman Dengan Goresan (*Streak*)

Pada penanaman dengan teknik *streak*, yaitu menggunakan ose yang telah dipijarkan pada lampu spiritus, kemudian koloni dari masing-masing pengenceran di inokulasi pada media PCA sesuai pengenceran. Gores secara kontinyu dengan *streak* zig-zag sampai setengah permukaan agar kemudian jangang pijarkan ose lalu putar cawan 180° C lanjutkan goresan sampai habis (Hafsan, 2015).

Berikut merupakan perhitungan jumlah koloni dan syarat koloni yang ditentukan untuk dihitung adalah sebagai berikut:

1. Idealnya jumlah koloni per plate yang boleh dihitung yaitu antara 30 s/d 300 *Coloni Forming Unit* (CFU)
2. Koloni besar, kecil, menjalar dianggap berasal dari satu bakteri.
3. Satu koloni dihitung satu koloni
4. Dua koloni yang bertumpuk dihitung satu koloni
5. Beberapa koloni yang berhubungan dihitung satu koloni
6. Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung dua koloni
7. Koloni yang terlalu besar (lebih besar dari setengah luas cawan) tidak dihitung.
8. Koloni yang besarnya kurang dari setengah luas cawan dihitung satu koloni.
9. Perhitungan dapat dilakukan dengan cara manual dengan memberi tanda titik dengan spidol pada petridish pada koloni yang sudah dihitung, dapat pula digunakan *Colony Counter*.
10. Dengan mengkalikan pengenceranya akan diperoleh angka/jumlah bakteri/bakteri per 1 gram/1 ml sampelnya.
11. Cara menghitung sel relatif/ CFU'S Per ml

$$\text{Koloni tiap mL} = \frac{\sum \text{jumlah koloni} - 1 \times F. \text{pengenceran}}{\text{jumlah pengenceran}}$$

Untuk menghitung jumlah koloni maka diperlukan suatu standar perhitungan. Standar ini berfungsi untuk melaporkan suatu hasil analisis mikrobiologi dan menjelaskan mengenai cara menghitung koloni pada cawan serta cara memilih data yang ada untuk menghitung jumlah koloni didalam suatu contoh. Standar yang digunakan adalah *Standard Plate Count* (SPC). Koloni yang dipilih

untuk dihitung menggunakan cara SPC memiliki syarat khusus berdasarkan statistik untuk memperkecil kesalahan dalam perhitungan. Perhitungan mengacu kepada standar atau peraturan yang telah ditentukan. Syarat- syaratnya sebagai berikut:

- a. Pilih cawan yang ditumbuhi koloni dengan dengan jumlah 30-300 koloni. $>300 =$ *Too Numerous To Count* (TNTC) atau Terlalu Banyak Untuk Dihitung (TBUD).
 $< 30 =$ *Too Few To Count* (TFCT).
- b. Jumlah koloni yang dilaporkan terdiri dari dua digit yaitu angka satuan dan angka persepuluh yang dikalikan dengan kelipatan 10 (*eksponensial*), misal 2.3×10^4 , bukan 2.34×10^4 . Pembulatan keatas dilakukan pada angka seperseratus yang sama atau lebih besar dari lima, misal 2.35×10^4 menjadi 2.4×10^4 , atau 2.34×10^4 menjadi 2.3×10^4 .
- c. Bila diperoleh perhitungan < 30 dari semua pengenceran, maka hanya pengenceran terendah yang dilaporkan.
- d. Bila diperoleh perhitungan > 300 dari semua pengenceran, maka hanya pengenceran yang tertinggi yang dihitung.
- e. Jika cawan dari dua tingkat pengenceran menghasilkan koloni dengan jumlah antara 30 dan 300 dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan dua. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari dua yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.
- f. Jika digunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut tidak boleh diambil salah satu meskipun salah satu dari cawan duplo tersebut tidak memenuhi syarat diantara 30 dan 300.