

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### **1. Bakteri**

###### **a. Definisi**

Bakteri adalah organisme bersel satu atau uniseluler, tidak memiliki membran inti atau prokariotik, tidak memiliki klorofil, berkembang biak dengan aseksual yaitu pembelahan sel dan memiliki ukuran mikron sehingga dibutuhkan mikroskop untuk membantu pengamatan (Putri, Sukini dan Yodong, 2017).

Habitat bakteri tersebar luas di alam, tanah, atmosfer, di lumpur, dan di laut. Bakteri dapat hidup bebas sebagai parasitik, saprofitik dan patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Bakteri juga dapat hidup di tubuh manusia sebagai flora normal (Suryani dan Taupiqurrahman, 2021).

###### **b. Bentuk Bakteri**

Bakteri memiliki berbagai macam bentuk tetapi bentuk dasar bakteri adalah bulat, batang dan lengkung. Bentuk bakteri dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Beberapa faktor pertumbuhan yang dapat mempengaruhi bentuk bakteri yaitu faktor makan atau nutrisi, suhu dan lingkungan (Suryani dan Taupiqurrahman, 2021). Berbagai macam bentuk dan ukuran bakteri dapat ditemukan di alam mulai dari bentuk sferis sangat

kecil, silindris, batang spiral, batang berflagel hingga rantai yang berfilamen (Soedarto, 2015).

Berikut macam bentuk bakteri, antra lain:

1) Berbentuk bulat (kokus)

Bakteri dengan bentuk bulat atau bola yang dinamakan kokus (*coccus*). Bakteri ini dibagi lagi menjadi 6 formasi, yaitu:

- a) Monokokus dengan bakteri bulat satu. Contoh *Monococcus gonorrhoe*.
- b) Diplokokus dengan bakteri bulat bergandeng dua – dua. Contoh *Diplococcus pneumoniae*.
- c) Staphylokokus dengan bakteri bulat berantai seperti anggur. Contoh *Staphylococcus aureus*.
- d) Steptokokus dengan bakteri bulat berantai lebih dari dua. Contoh *Streptococcus faecalis*.
- e) Sarkina dengan bakteri bulat tersusun seperti kubus dengan 8 sel. Contoh *Thiosarcina rosea*.
- f) Tetrakokus dengan bakteri bulat tersusun 4 sel. Contoh *Pediococcus*.

(Putri, Sukini dan Yodong, 2017).

2) Batang (basil)

Bakteri dengan bentuk batang atau basil dibedakan ke dalam bentuk batang panjang atau batang pendek, dengan ujung datar

atau lengkung. Bakteri dengan bentuk basil dibagi menjadi beberapa formasi, antara lain:

- a) Sel tunggal (monobasil), contoh *Escherchia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*.
- b) Bergandeng dua-dua (diplobasil)
- c) Rantai (steptobasil) atau jaringan tiang (palisade), contoh *Bacillus anthrax*.

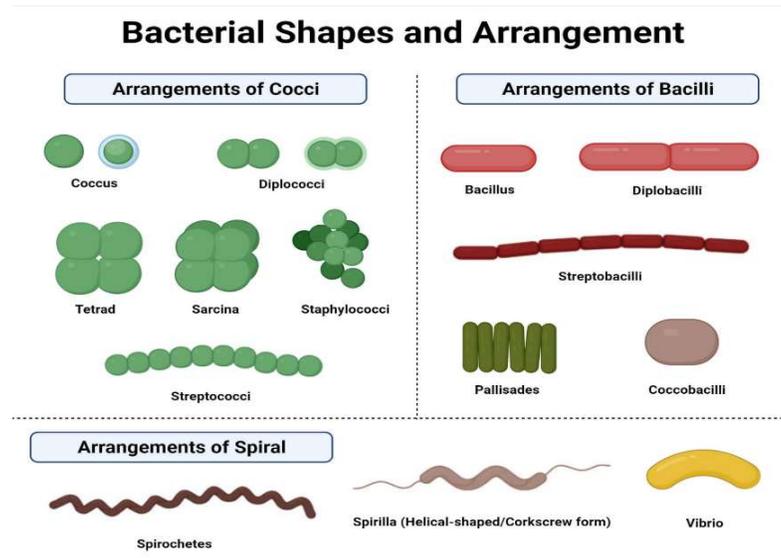
(Putri, Sukini dan Yodong, 2017).

### 3) Bentuk lengkung (spiral)

Bakteri dengan bentuk lengkung atau spiral dibagi menjadi tiga, yaitu:

- a) Bentuk koma (vibrio) dengan lengkungan kurang dari setengah lingkaran atau seperti batang bengkok berukuran kecil, contoh bakteri *Vibrio cholere*.
- b) Bentuk spiral dengan bakteri menyerupai spiral dengan lengkungan lebih dari setengah lingkaran, contoh *Helicobacter pylori*.
- c) Bentuk sirochaeta dengan spiral yang halus dan lentur, lebih berkelok kelok dengan ujung lebih runcing. Contoh bakteri *Treponema pallidum* yaitu bakteri penyebab sifilis.

(Putri, Sukini dan Yodong, 2017).



Gambar 1. Bentuk- Bentuk Bakteri  
Sumber: (Sapkota, 2022)

#### c. Struktur Bakteri

Bakteri dibagi menjadi dua struktur, yaitu struktur dasar dan struktur tambahan. Struktur dasar dimana hampir semua jenis bakteri mempunyai, meliputi dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, DNA dan granula penyimpanan. Struktur tambahan dimana pada jenis bakteri tertentu yang memiliki struktur tambahan, meliputi kapsul, flagellum, pilli, fimbria, kromosom, vakuola gas dan endospore (Putri, Sukini dan Yodong, 2017).

#### d. Pertumbuhan Bakteri

Bakteri seperti makhluk hidup yang membutuhkan nutrisi sebagai sumber energi untuk membantu metabolisme sel dan melakukan reproduksi dengan pembelahan sel. Pertumbuhan didefinisi dengan bertambahnya kuantitas konsentrasi seluler dan

struktur yang dinyatakan dalam ukuran, penambahan jumlah, penambahan ukuran sel dan penambahan berat atau massa (Suarjana *et al.*, 2017). Pertumbuhan bakteri didukung dengan lingkungan yang menyediakan sumber nutrisi dalam menunjang pertumbuhan (Putri, Sukini dan Yodong, 2017).

Berikut beberapa faktor pertumbuhan bakteri, antara lain:

#### 1) Sumber Karbon

Karbon merupakan nutrisi yang paling penting dalam pertumbuhan. Bakteri dikelompokkan menjadi dua berdasarkan kebutuhan sumber karbon, yaitu autotrof artinya menggunakan substansi anorganik dalam bentuk karbon dioksida sebagai sumber karbon dan heterotrof artinya menggunakan substansi organik kompleks, seperti sukrosa atau glukosa sebagai sumber karbondioksida (Putri, Sukini dan Yodong, 2017).

#### 2) Suhu

Suhu salah satu faktor penting dalam pertumbuhan terutama untuk kerja enzim bakteri. Berdasarkan kemampuan tumbuh pada suhu lingkungan digolongkan menjadi tiga, yaitu:

- a) Psikrofilik, yaitu bakteri yang dapat tumbuh pada suhu dingin  $< 20^{\circ}\text{C}$  dengan suhu optimum  $10^{\circ}\text{C} - 20^{\circ}\text{C}$ .
- b) Mesofilik, yaitu bakteri yang dapat tumbuh pada rentang suhu  $25^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$  dengan suhu optimum  $37^{\circ}\text{C}$ .

- c) Termofilik, yaitu bakteri yang dapat tumbuh pada rentang suhu 45°C – 80°C dengan suhu optimum 50°C – 60°C (Suarjana *et al.*, 2017).

### 3) Kebutuhan Oksigen

Oksigen merupakan salah satu faktor pertumbuhan bakteri. Kadar oksigen yang tepat dibutuhkan untuk keseimbangan pertumbuhan. Berdasarkan kebutuhan oksigen, bakteri dibagi menjadi beberapa kelompok, antara lain:

- a) Aerob, bakteri yang tumbuh sangat dibutuhkan ketersediaan oksigen untuk tetap hidup.
- b) Aerob obligat, bakteri yang hidup bila ada oksigen bebas.
- c) Aerob fakultatif, bakteri yang hidup dan tumbuh dengan baik apabila tersedia oksigen. Jika tidak ada oksigen, bakteri tetap bisa hidup.
- d) Anaerob obligat, bakteri yang tidak dapat hidup jika ada oksigen bebas.
- e) Mikroaerofilik, bakteri yang akan hidup dan tumbuh dengan baik pada kadar oksigen yang rendah (Soedarto, 2015).

### 4) Kebutuhan pH

Pada umumnya pertumbuhan bakteri pada rentang pH 4 – 9 dengan pH 7,2 – 7,4 untuk pertumbuhan optimal. Berdasarkan kebutuhan pH bakteri dikelompokkan sebagai berikut:

- a) Asidofilik, bakteri tumbuh baik pada pH 2 – 5.

- b) Neutrofilik, bakteri tumbuh baik pada pH 5,5 – 8.
- c) Alkalifilik, bakteri tumbuh baik pada pH 8,5 – 9 (Suarjana *et al.*, 2017).

#### 5) Ion – Ion Anorganik

Ion anorganik memiliki peran dalam memenuhi nutrisi pada pertumbuhan bakteri, seperti Nitrogen, Sulfur, Fosfat, Magnesium, Kalium dan sejumlah *trace* elemen lainnya (Putri, Sukini dan Yodong, 2017).

#### 6) Nutrien Organik

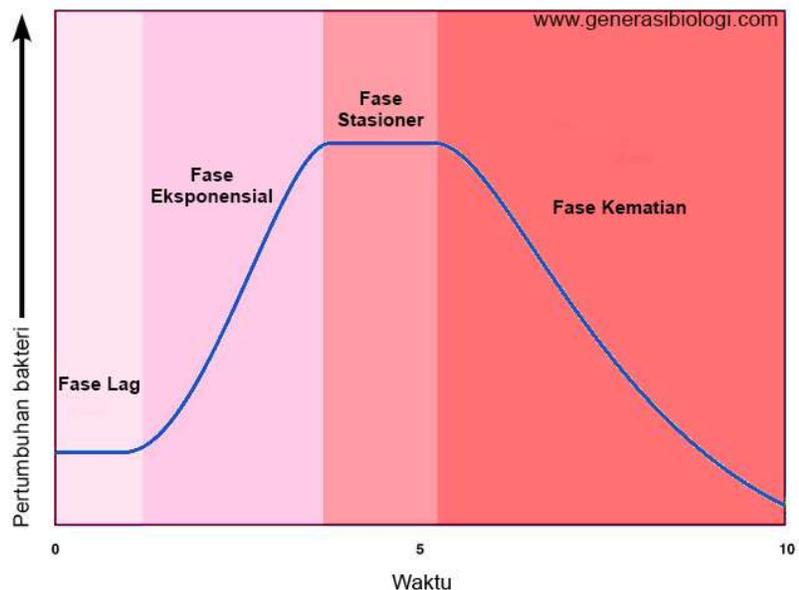
Nutrien organik sangat dibutuhkan dalam jumlah tertentu, tergantung spesies bakteri. Berikut beberapa nutrient organik yang diperlukan, seperti karbohidrat untuk sumber energi dan bahan awal untuk proses biosintesis lalu asam amino, vitamin, purin dan pyrimdin yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit untuk pertumbuhan bakteri (Putri, Sukini dan Yodong, 2017).

#### e. Siklus Pertumbuhan Bakteri

Siklus pertumbuhan bakteri dibagi menjadi 4 fase, yaitu:

- 1) Fase Lag atau Fase Permulaan. Pada fase ini bakteri belum berkembang biak atau memperbanyak sel tetapi bakteri mengalami periode adaptasi, dengan sejumlah aktivitas metabolik.

- 2) Fase Log (Logaritma, eksponensial). Pada fase ini terjadi pertumbuhan yang dipercepat. Sel bakteri sangat aktif membelah diri.
- 3) Fase Stasioner. Pada fase ini bakteri mulai terhambat, kecepatan pertumbuhan menurun karena berkurangnya jumlah nutrisi, terbentuknya produksi toksik akibat metabolisme dan penurunan pH yang tajam, sehingga jumlah sel baru dihasilkan seimbang dengan jumlah sel mati. Pada fase ini bakteri mencapai kepadatan maksimal.
- 4) Fase Penurunan atau Fase Kematian. Pada fase ini ditandai penurunan jumlah bakteri hidup (Putri, Sukini dan Yodong, 2017).



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri  
Sumber: Tamam, 2016.

## 2. Bakteri *Staphylococcus aureus*

### a. Deskripsi *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri flora normal pada manusia yang dapat hidup kulit dan jaringan lunak seperti selaput lender/mukosa (Tiara dan Alwi, 2014). Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri flora normal yang bersifat oportunistik, artinya pada kondisi tubuh kurang baik dapat bersifat patogen (Apriyanti, W Laksmi dan Widayanti, 2022). Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit serius, mulai dari infeksi kulit hingga pneumonia dan sepsis (Cheung, Bae dan Otto, 2021).

### b. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Soedarto (2015) adalah sebagai berikut:

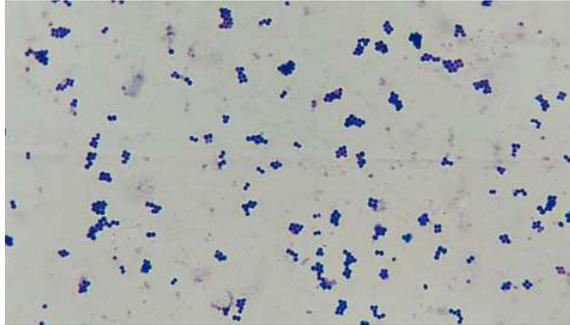
Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

c. Morfologi dan Identifikasi

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dengan warna ungu, berbentuk *coccus* atau bulat dengan berdiameter sekitar 1µm, apabila dilihat secara mikroskopik koloni bergerombol menyerupai anggur. Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri non mortil, tidak berspora dan koloni bakteri berwarna emas atau kuning (Soedarto, 2015).

Tipe koloni *Staphylococcus aureus* beragam berdasarkan media tumbuhnya. Koloni pada media lempeng agar darah, tampak berbentuk bulat kuning keemasan dengan tepian rata, diameter 0,5-1 mm, mengkilap, opaque berwarna krem dan hemolisis total sekitar koloni (Alimsardjono *et al.*, 2015). Koloni pada media *mannitol salt agar*, tampak berbentuk bulat dengan koloni berwarna kuning, halus, memiliki zona kuning di sekitar koloni dan elevasi datar. Koloni pada media *nutrient agar*, tampak koloni bulat kuning dengan elevasi datar (Soemarno, 1987).

Pada identifikasi biokimia, uji katalase positif yang membedakan antara *Staphylococcus sp* dengan *Streptococcus sp*, uji koagulasi positif yang membedakan *Staphylococcus aureus* dengan spesies *Staphylococcus sp* lainnya, uji antibiotik novobiocin sensitif yang membedakan dengan *Staphylococcus saprophyticus*, dan uji fermentasi manitol positif yang membedakan dari *Staphylococcus epidermidis* (Taylor dan Unakal, 2022).



Gambar 3. Morfologi Mikroskopis *Staphylococcus aureus*

d. Pertumbuhan dan Pemiakan

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan baik pada media pembiakan bakteri secara aerobik atau aerobik fakultatif. Pertumbuhan optimal bakteri ini pada suhu 37°C tetapi pembentukan pigmen yang baik pada suhu 20-35°C (Brooks, Butel dan Morse, 2005). Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki pH optimum 7.0 – 7.5 (Bonang, 1982). Pada media padat koloni berbentuk bulat, licin, halus, pinggiran rata dan berwarna abu-abu dengan kuning keemasan. Pada media cair *Staphylococcus aureus* tidak membentuk pigmen, melainkan menyebabkan kekeruhan pada media cair (Brooks, Butel dan Morse, 2005).

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh di media biakan, antara lain:

1) *Nutrient Agar Plate* (NAP)

Media *Nutrient Agar Plate* (NAP) merupakan media tumbuh *Staphylococcus aureus* yang banyak digunakan untuk

mengetahui pigmen. Nutrient agar suatu medium padat perpaduan antara bahan alami dan senyawa-senyawa kimia (Fatmariza, Inayati dan Rohmi, 2019). Pada media ini, koloni akan berbentuk bulat dengan pigmen warna kuning keemasan, elevasi datar atau keping dan halus (Soemarno, 1987).

## 2) *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Media MSA merupakan media selektif dan diferensial untuk isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus*. Hasil pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ditandai dengan perubahan warna media dari warna merah menjadi warna kuning (asam) karena adanya *fenol acid* (Toelle dan Lenda, 2014). Perubahan media menjadi kuning artinya bakteri mampu menguraikan mannitol menjadi asam. Koloni bakteri yang tumbuh berbentuk bulat kecil - sedang, berwarna kuning, halus, memiliki zona kuning disekitar koloni dan elevasi datar atau keping (Soemarno, 1987).

## 3) *Blood Agar Plate* (BAP)

Media BAP merupakan media untuk membedakan bakteri patogen berdasarkan hemolisanya. Media ini biasa digunakan dalam pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Koloni tumbuh sedang – besar, berbentuk bulat, licin, pinggiran rata, membentuk pigmen kuning emas dengan zona hemolisis total disekitar koloni (Putri, Sukini dan Yodong, 2017).

e. Patogenitas

Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri Gram positif yang bersifat patogen. Bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan toksin yang menyebabkan penyakit pada manusia melalui invasi jaringan. Infeksi dapat ditularkan melalui tangan yang membawa koloni bakteri ke luka atau sayatan pada kulit, luka bedah atau tempat lain dengan kekebalan yang melemah (Soedarto, 2015).

Infeksi bakteri ini menyebabkan beberapa penyakit klinis. Beberapa penyakit klinis pada manusia akibat infeksi *Staphylococcus aureus*, antara lain endokarditis infeksi, infeksi kulit (bintil, furunkel, folikolitis, bisul, impetigo, selulitis), sindrom kulit melepuh, infeksi paru-paru (pneumonia), gastroenteritis, radang selaput otak (meningitis), sindrom syok toksik dan infeksi saluran kemih (Taylor dan Unakal, 2022). Infeksi akibat *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi yang lebih parah, terutama bagi orang dengan imun yang buruk atau lemah, cedera traumatis dan adanya luka bakar (Foster, 1996).

3. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan

Penyimpanan dan pemeliharaan kultur bakteri merupakan langkah dalam menjaga viabilitas atau daya hidup bakteri. Banyak teknik penyimpanan dan pemeliharaan dikembangkan dan diterapkan. Akan tetapi, untuk memilih metode penyimpanan yang tepat, beberapa faktor penting harus dipertimbangkan, antara lain jumlah kultur, nilai

ekonomis kultur, banyaknya penggunaan kultur dan fasilitas pendukung yang ada meliputi sumber daya manusia, peralatan, dan biaya. Dari faktor tersebut, yang paling penting dalam penyimpanan dan pemeliharaan adalah menjaga mikroorganisme tidak mati, tidak kontaminasi, dan tidak mengalami perubahan genetik atau mutasi (Novelina, 2005).

Berikut beberapa metode penyimpanan dan pemeliharaan bakteri yang digunakan, antara lain:

a. Peremajaan Berkala

Peremajaan berkala merupakan teknik tradisional dalam memelihara isolat mikroba di laboratorium. Peremajaan berkala yaitu memindahkan atau memperbarui biakan mikroba dari biakan lama ke biakan baru dalam jangka waktu tertentu. Peremajaan berkala tidak dianjurkan untuk penyimpanan jangka panjang karena beresiko terkontaminasi, mengalami perubahan genetik dan terjadi kesalahan pelabelan (Ida, Sariono dan Putra, 2022). Meskipun demikian, banyak bakteri dan jamur yang dapat hidup dalam tabung agar miring yang tertutup rapat hingga bertahun-tahun disegala macam suhu (Machmud, 2001).

b. Penyimpanan Dalam Akuades Steril

Penyimpanan dengan akuades steril hanya berlaku untuk beberapa bakteri, terutama genus *Pseudomonas*, *Agrobacterium* dan *Curtobacterium*. Bakteri *Pseudomonas* merupakan bakteri Gram

negatif, berbentuk batang yang dapat disimpan cukup lama dengan metode ini pada suhu 10-15°C (Machmud, 2001). Metode penyimpanan ini sangat tidak disarankan untuk jangka panjang karena bakteri berpeluang tumbuh meskipun lambat, sehingga tidak menjamin stabilitas genetiknya dan memiliki resiko kontaminasi (Sumarsih, 2014).

c. Penyimpanan Dalam Tanah Steril

Penyimpanan dalam tanah steril bermanfaat bagi fungi, *Streptomyces spp.* dan bakteri berspora seperti *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.* dan *Rhizobium spp.* Keuntungan metode ini yaitu murah, penyimpanan suhu ruang dan dapat mempertahankan stabilitas genetik mikroba (Sumarsih, 2014).

d. Penyimpanan Dalam Minyak Mineral

Penyimpanan dalam minyak mineral merupakan salah satu metode penyimpanan paling sederhana untuk bakteri, khamir dan jamur. Penyimpanan ini menggunakan tabung miring dan ditutup dengan minyak mineral atau paraffin cair setinggi 10-20 mm dari permukaan atas media. Dasar penyimpanan ini yaitu mempertahankan stabilitas mikroba dengan mencegah media mengering, sehingga memperpanjang waktu peremajaan sampai bertahun-tahun. Kelemahan metode ini adalah transportasi tidak praktis dan adanya minyak mineral yang mengotori peremajaan (Sumarsih, 2014).

e. Penyimpanan Kering Beku atau Liofilisasi

Metode kering beku (*freeze drying*) atau liofilisasi merupakan penyimpanan bakteri jangka panjang yang menggabungkan dua teknik yaitu pengeringan dan pembekuan. Prinsip metode ini yang mana suspensi sel terisolasi yang berkonsentrasi tinggi dibekukan, didehidrasi melalui sublimasi, dan kemudian dikeringkan (Iversen *et al.*, 2022).

Pada metode kering beku, produk akan dibekukan kemudian air dalam bahan akan berubah menjadi uap. Proses pembekuan dilakukan dalam bejana tertutup rapat dengan tekanan panas yang terjaga dan didehidrasi. Proses ini didapat hasil bahan yang kering, ringan dan ruang yang lebih ringkas (Dewi, 2013).

Metode kering beku merupakan metode terbaik untuk mencegah adanya perubahan kimia dan meminimalisir hilangnya nutrient selama proses penyimpanan. Kultur kering beku mempunyai visual jernih, padat dan memiliki viabilitas sel yang baik. Pengeringan beku mempertahankan bentuk kaku dari bahan yang dikeringkan sehingga membentuk pori yang tidak berkerut. Keuntungan metode kering beku yaitu stabilitas struktur, kering, menempati volume yang kecil sehingga menekan biaya dan pengiriman (Machmud, 2001).

#### 4. Lioprotektan

Lioprotektan merupakan agen tambahan yang diberikan untuk melindungi sel dari tekanan selama proses liofiliasis (Paramanandana *et al.*, 2017). Lioprotektan berfungsi mengatasi denaturasi protein pada sel, menjaga kestabilan selama proses pembekuan (Emmai *et al.*, 2018), mengurangi terbentuknya kristal es pada bagian dalam maupun luar sel dan menjaga sel tetap hidup selama penyimpanan (Rachmat dan Shovitri, 2021).

Gula adalah kelompok klasik yang digunakan sebagai lioprotektan, seperti maltose, sukrosa dan trehalose yang mampu mengurangi pembentukan kristal es (Bircher *et al.*, 2018). Gula digunakan sebagai stabilisator yang dapat mengurai tekanan saat pembekuan (Emami *et al.*, 2018).

Protein merupakan bahan tambahan yang dapat ditambahkan pada formula lioprotektan untuk memberikan perlindungan pada sel. *Bovine serum albumin* (BSA) merupakan protein yang sering dikombinasi dengan gula, seperti sukrosa, trehalosa, dan dekstran pada formula lioprotektan (Imamura *et al.*, 2003). Kombinasi protein pada lioprotektan dapat menghambat denaturasi protein pada sel selama dehidrasi atau pengeringan (Liao, Brown dan Martin, 2004) dengan membentuk ikatan hidrogen dengan bagian polar pada permukaan sel diakhir tahap pengeringan (Emami *et al.*, 2018).

## 5. Angka Lempeng Total

Mempertahankan daya hidup atau viabilitas bakteri salah satu tujuan dari penyimpanan dan pemeliharaan kultur bakteri. Angka Lempeng Total (ALT) merupakan metode kuantitatif untuk mengetahui jumlah mikroba pada satu sampel atau mengetahui daya hidup bakteri, hasil akhir berupa koloni yang diamati secara langsung menggunakan media padat *Plate Count Agar* (PCA). Menurut SNI 7388 tahun 2009, Angka Lempeng Total (ALT) adalah jumlah mikroba aerob mesofilik dalam suatu produk per gram atau per mililiter yang ditentukan melalui metode standar.

Macam metode perhitungan Angka Lempeng Total (ALT), antara lain:

### a. *Pour Plate* (Cawan Tuang)

Prinsip metode cawan tuang adalah menumbuhkan sel bakteri dengan mencampur media agar cair dan suspensi bakteri hidup hasil pengenceran, sehingga sel bakteri akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat secara langsung (Gunawan, 2017). Pada cawan tuang mencampurkan sel bakteri dengan media agar cair pada suhu 45°C.

### b. *Spread Plate* (Cawan Sebar)

Prinsip metode cawan sebar adalah menumbuhkan bakteri dengan menungkan suspensi bakteri hidup hasil pengenceran ke media agar yang sudah padat lalu disebar secara merata. Sel bakteri

disebar pada media agar dengan ose bengkok atau ose berbentuk “L” steril selama inokulasi dan cawan petri diputar.

Pengenceran bakteri pada kedua metode dilakukan dengan pencampuran berseri yang diawali dari 1:10 dan kelipatannya. Koloni bakteri yang tumbuh pada media dihitung dan dikalikan dengan kebalikan pengenceran, sehingga didapat jumlah bakteri tiap gram atau per mililiter sampel (Retnaningrum, Siwi dan Siregar, 2017). Namun, sebelum perhitungan koloni bakteri pada kedua metode angka lempeng total harus diinokulasi dan diinkubasi terlebih dahulu (Gunawan, 2017).

## 6. Morfologi Bakteri

Mikrobiologi merupakan objek makhluk hidup yang berukuran kecil bahkan tak kasat mata. Pengamatan morfologi bakteri dibagi menjadi dua, yaitu makroskopis dan mikroskopis. Makroskopis yaitu pengamatan koloni bakteri yang tumbuh pada media tumbuh. Mikroskopis yaitu pengamatan visual atau morfologi sel dibutuhkan alat bantu yaitu mikroskopis. Mikroorganisme yang sering dijadikan objek pengamatan mikroskopis adalah bakteri. Bakteri memiliki karakteristik yang berbeda. Oleh karena itu, dibutuhkan pengecatan dalam membantu identifikasi bakteri (Harahap *et al.*, 2021).

Pengamatan morfologi bakteri dapat menggunakan teknik pengecatan atau pewarnaan bakteri. Pewarnaan berfungsi untuk mempermudah melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas bentuk dalam melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding

sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas daripada bakteri dengan zat warna, serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya (Pelczar dan Chen, 1986).

Pewarnaan Gram merupakan pewarnaan yang paling sering digunakan untuk mengidentifikasi bakteri. Pewarnaan Gram membagi bakteri menjadi dua yaitu bakteri Gram positif berwarna biru atau ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah. Prosedur pewarnaan Gram diawali membersihkan preparat dengan alkohol swab 70% dan di fiksasi di atas bunsen. Pijarkan jarum ose dan ambil bakteri dari media dengan aseptik lalu ratakan di atas objek glass. Pewarnaan pertama dengan menggenangi Kristal violet selama 30 detik dan cuci dengan akuades. Kedua dengan iodium selama 1 menit kemudian bilas dengan alkohol 70% dan di cuci dengan akuades. Ketiga dengan Safranin selama 30 detik kemudian bilas dengan akuades, diamkan hingga kering dan terakhir amati dibawah mikroskop (Fitrah, Irfan dan Saragih, 2017).

## 7. Biokimia Bakteri

Bakteri memiliki aktivitas biokimia tersendiri yang dapat memudahkan identifikasi. Uji biokimia bakteri merupakan kegiatan mengidentifikasi dan mendeterminasi biakan murni bakteri hasil isolasi melewati sifat-sifat fisiologisnya. Biokimia erat kaitannya dengan metabolisme sel, reaksi kimiawi yang dilakukan oleh sel menghasilkan energi maupun memakai energi untuk sintesis komponen-komponen sel dan untuk kegiatan seluler, seperti pergerakan (Pelczar dan Chen, 1986).

Pengamatan aktivitas biokimia diketahui dari kemampuan mikroba untuk menggunakan dan mengurai molekul kompleks menjadi molekul sederhana dari lingkungan sekitar. Aktivitas biokimia menggunakan enzim bakteri untuk degradasi karbohidrat, lemak, protein dan asam amino. Metabolisme ini menghasilkan produk yang dapat mengidentifikasi bakteri (Panjaitan *et al.*, 2020).

Macam uji biokimia, antara lain:

a. Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat salah satu uji identifikasi bakteri berdasarkan kemampuan bakteri untuk memfermentasikan karbohidrat. Uji manitol adalah uji yang banyak digunakan untuk identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan mengisolasi bakteri ke dalam media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Hayati *et al.*, 2019). Uji manitol bersifat positif ditandai dengan perubahan warna media dari warna merah menjadi warna kuning karena sifat asam yang timbul akibat aktivitas fermentasi manitol (Toelle dan Lenda, 2014). Perubahan media menjadi kuning, artinya bakteri *Staphylococcus aureus* mampu menguraikan manitol menjadi asam (Taylor dan Unakal, 2022).

Uji glukosa adalah uji tambahan dalam mengidentifikasi bakteri dengan pengamatan fermentasi karbohidrat. Perubahan media karena bakteri mampu memfermentasikan karbohidrat dengan ditandai perubahan warna indikator dan penurunan pH

sehingga menghasilkan asam. Karakteristik fermentasi karbohidrat dipakai untuk membedakan spesies bakteri dalam satu genus tertentu untuk identifikasi. Menurut (Karimela, Ijong dan Dien, 2017)

b. Uji DNase

Uji DNase salah satu uji untuk mengidentifikasi bakteri patogen, seperti bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan aktivitas deoksiribonuklease (DNase). Reaksi positif ditandai dengan zona bening pada koloni saat penuangan HCL disekitar koloni yang menandakan *Staphylococcus aureus*, DNase memecah DNA menjadi fosfo mononukleotida. Enzim ini merupakan suatu protein kompleks terdiri rantai polipeptida tunggal yang terdapat pada permukaan sel (Karimela, Ijong dan Dien, 2017).

c. Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Uji TSIA digunakan untuk membedakan organisme berdasarkan pola fermentasi karbohidrat dan produksi hidrogen sulfida. Fermentasi karbohidrat ditandai dengan adanya gelembung dan perubahan warna indikator pH dari merah atau jingga menjadi kuning. Perubahan warna kuning pada lereng dan pantat tabung menunjukkan bakteri memfermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa dan sukrosa). Interpretasi uji TSIA dengan reaksi basa/asam (leher merah/pantat kuning) menunjukkan menunjukkan hanya memfermentasi glukosa, reaksi asam/asam (leher kuning/pantat

kuning) menunjukkan bakteri memfermentasi semua karbohidrat dan reaksi basa/basa (leher merah/pantat merah) menunjukkan bakteri tidak memfermentasi karbohidrat (Anggraini, Aliza dan Siska, 2016). Produksi hidrogen sulfida dengan indikator produksi hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S) ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada media (Hayati *et al.*, 2019). Hasil pengujian terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan terbentuk asam/asam (leher kuning/pantat kuning) (Alam, Basarang dan Nasir, 2018).

d. Uji Produksi Hidrogen Sulfat (H<sub>2</sub>S)

Uji hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S) merupakan identifikasi dengan mengamati bakteri yang dapat mereduksi Fe menjadi FeS yang berwarna hitam karena pembentukan metal sulfida (H<sub>2</sub>S<sup>+</sup>), yaitu MZ-3, CS-2 dan CS-4. Uji produksi hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S) dilakukan di media *Sulfide Indol Motility* (SIM). Pengamatan produksi hidrogen sulfida juga bisa dilakukan pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) tetapi tidak sesensitif media SIM. Interpretasi hasil positif juga menunjukkan perubahan media menjadi kehitaman. Pada bakteri *Stapylococcus aureus* didapat hasil negatif karena media tidak berubah menjadi hitam (Hayati *et al.*, 2019).

e. Uji Indol

Uji indol salah satu bagian dari uji biokimia pada bakteri. Uji indol digunakan sebagai uji identifikasi dengan menambahkan

reagen Ehrlich/Kovac's pada media SIM setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Reaksi positif pada uji indol ditandai warna merah pada medium. Warna merah di bagian atas yang menandakan bakteri yang memiliki enzim triptonase dan dapat menghidrolisis asam amino (Yulvizar, 2013). Pada bakteri *Staphylococcus aureus* didapat hasil negatif karena tidak membentuk warna merah (Soemarno, 1987).

f. Uji Mortilitas

Uji mortilitas merupakan uji untuk mengetahui bakteri motil atau non motil. Uji mortilitas dengan menusukkan isolate bakter pada media SIM semi padat dengan ose tusuk steril. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri secara menyebar, artinya bakteri bergerak atau motil tetapi bila bakteri tidak menyebar dan hanya berupa satu garis, artinya bakteri tidak bergerak atau non motil (Yulvizar, 2013). Pada bakteri *Staphylococcus sp* didapat hasil negatif atau non motil dengan pertumbuhan bakteri berupa garis lurus dan tidak menyebar pada media SIM (Paramita, Suarjana dan Besung, 2020).

g. Uji Sitrat

Uji sitrat merupakan uji identifikasi bakteri dengan memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon sehingga menghasilkan natrium karbonat bersifat alkali. Indikator hasil positif terbentuk warna biru (*brom thymol blue*) pada media yang semula berwarna

hijau (Mahmudah, Baharuddin dan Sappewali, 2016). Uji sitrat dilakukan pada media *Simmon Citrate* (SC). Hasil uji *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil positif dengan perubahan media menjadi biru (Aryal, 2015).

h. Uji Katalase

Uji katalase menggunakan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) 3% yang ditetaskan pada kaca objek yang steril. Biakan bakteri dioleskan pada kaca objek yang sudah ditetesi hidrogen peroksida dengan ose. Suspensi dicampur perlahan dengan ose, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung udara. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* didapat hasil positif dengan terbentuknya gelembung (Dewi, 2013).

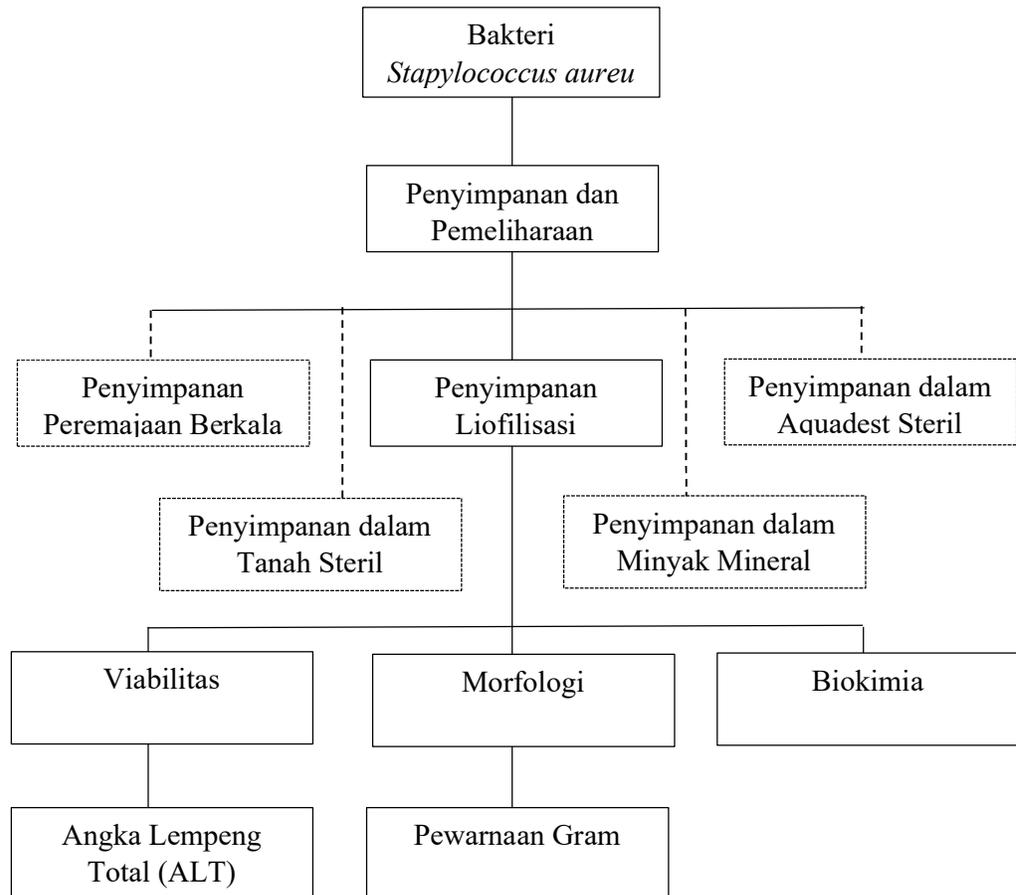
i. Uji Koagulase

Uji koagulase merupakan penanda tradisional untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* di laboratorium mikrobiologi klinik. Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Uji koagulase terdiri dari 2 metode, yaitu uji slide dan uji tabung. Uji slide (*clumping factor*) dengan meneteskan NaCl fisiologis pada kaca objek yang sudah terdapat biakan bakteri, kemudian teteskan plasma citrat lalu campur dan goyangkan 2-3 menit. Indikator positif terbentuk gumpalan (Soemarno, 1987). Uji tabung dengan mencampurkan 200  $\mu$ l plasma dan 3-4 ose biakan pada tabung

dengan aseptis. Inkubasi pada 37°C dengan pengamatan dilakukan 4 jam pertama dan sesudah 18-24 jam. Indikator uji tabung dengan terbentuknya *clot* atau *jelly* pada dasar tabung (Dewi, 2013). Pada uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* didapat hasil positif dengan terbentuknya *jelly* pada dasar tabung (Alimsardjono *et al.*, 2015) .

## B. Kerangka Teori

Kerangka teori pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.



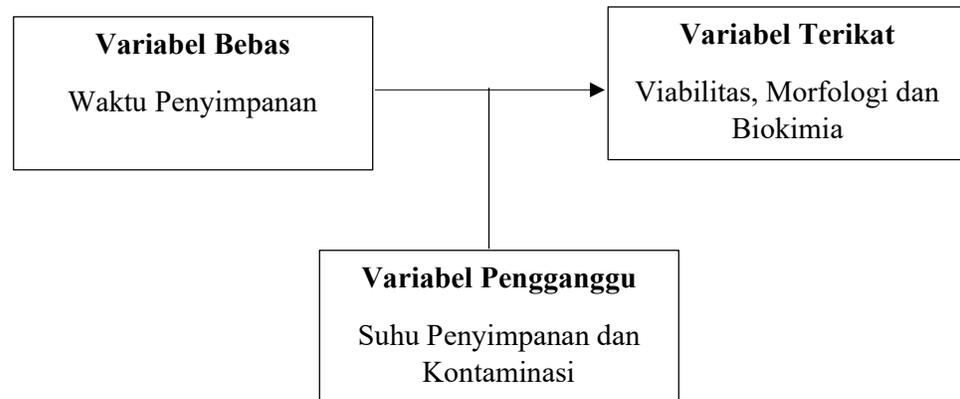
Gambar 4. Kerangka Teori

Keterangan:

———— : Diteliti

----- : Tidak Diteliti

### C. Hubungan Antara Variabel



Gambar 5. Hubungan Antara Variabel

### D. Pertanyaan Penelitian

1. Bagaimana viabilitas bakteri liofilisat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan serum kuda sebagai lioprotektan yang disimpan selama dua bulan pada suhu 4°C?
2. Bagaimana morfologi bakteri liofilisat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan serum kuda sebagai lioprotektan yang disimpan selama dua bulan pada suhu 4°C?
3. Bagaimana sifat biokimia bakteri liofilisat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan serum kuda sebagai lioprotektan yang disimpan selama dua bulan pada suhu 4°C?