

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

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

##### **1. Media Pertumbuhan**

###### **a. Deskripsi**

Media merupakan suatu bahan yang memiliki persediaan nutrisi bagi mikroorganisme seperti bakteri untuk tumbuh dan berkembangbiak (Cappuccino & Sherman, 2013). Selain digunakan untuk menumbuhkan bakteri, media dapat digunakan untuk isolasi, inokulasi, pengujian sifat fisiologis serta perhitungan jumlah bakteri (Cahyani, 2014). Nutrisi yang terkandung dalam media merupakan substansi yang memiliki berat molekul rendah dan dapat larut dalam air. Media pertumbuhan dapat dikatakan baik apabila mampu memenuhi kebutuhan dasar bagi mikroorganisme (Supriatin & Rahayyu, 2016)

###### **b. Syarat Media Pertumbuhan**

Menurut penjelasan (Gupte, 2010) media pertumbuhan bakteri yang baik harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

- 1) Memiliki kelembapan yang cukup, pH yang sesuai dan kadar oksigen baik serta mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan bagi bakteri untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan
- 2) Media dalam keadaan steril dan tidak terkontaminasi oleh organisme lain.

- 3) Media mampu menumbuhkan bakteri secara cepat dan memberikan kualitas yang baik serta menunjukkan semua karakteristik bakteri yang akan diamati.

c. Klasifikasi Media

Media pertumbuhan bakteri dapat diklasifikasikan melalui berbagai cara antara lain :

- 1) Klasifikasi berdasarkan sifat fisik

- a) Media Cair

Pada media cair bakteri mampu tumbuh dengan baik dalam waktu 3 sampai 4 jam. Media cair digunakan sebagai media yang diperkaya sebelum bakteri ditanamkan pada media padat. Namun, media ini tidak sesuai untuk digunakan sebagai media isolasi kultur murni selain itu tidak dapat dilakukan pengamatan koloni bakteri. Contoh media cair yaitu Nutrient broth, peptone water, blood broth dan lain sebagainya (Gupte, 2010)

- b) Media Padat

Media padat digunakan untuk mempelajari karakteristik koloni bakteri. Media padat sangat baik digunakan untuk isolasi bakteri dalam bentuk kultur murni. Bahan penting yang digunakan dalam media padat adalah agar (Gupte, 2010).

- 2) Klasifikasi berdasarkan kegunaannya

- a) Media selektif

Media selektif memiliki kegunaan untuk mengisolasi bakteri tertentu. Media tersebut mengandung zat – zat kimia yang memiliki kemampuan untuk menghambat jenis bakteri tertentu sehingga memudahkan isolasi bakteri. Seperti agar feniletil alkohol yang digunakan untuk isolasi sebagian besar bakteri Gram positif, agar kristal violet untuk isolasi sebagian besar bakteri Gram negatif dan lain – lain (Cappuccino & Sherman, 2013).

b) Media diferensial

Media ini memiliki unsur yang memungkinkan untuk mengidentifikasi mikroorganisme, identifikasi dilakukan pada karakteristik koloni bakteri. Salah satu contoh media diferensial yaitu MacConkey Agar, MCA mengandung garam – garam empedu untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan mampu membedakan koloni bakteri yang mampu memfermentasikan laktosa dan tidak (Cappuccino & Sherman, 2013).

c) Media yang diperkaya

Media yang diperkaya merupakan media yang ditambahkan dengan bahan – bahan tinggi nutrisi seperti serum, darah dan ekstrak khamir (Cappuccino & Sherman, 2013).

3) Klasifikasi berdasarkan kebutuhan nutrisi bakteri

a) Media yang ditetapkan secara kimia

Media ini mengandung sejumlah senyawa - senyawa organik atau anorganik yang murni secara kimia. Media digunakan untuk pertumbuhan bakteri yang membutuhkan nutrisi spesifik (Cappuccino & Sherman, 2013).

b) Media kompleks

Media kompleks terdiri dari ekstrak jaringan tanaman dan hewan dan memiliki komposisi yang bervariasi. Sebagian besar mengandung asam amino, gula, vitamin dan mineral namun dalam jumlah yang tidak diketahui. Unsur – unsur tersebut mampu mendukung dalam pertumbuhan dan perkembangan biakan bakteri (Cappuccino & Sherman, 2013).

2. Media *Nutrient Agar* (NA)

Media Nutrient Agar adalah media nutrisi yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Nutrient Agar dapat menumbuhkan berbagai jenis bakteri dan jamur, serta mengandung banyak nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Nutrient Agar (NA) termasuk dalam jenis media kompleks karena menggunakan bahan dalam jumlah atau jenis nutrisi yang tidak diketahui (Tantray dkk., 2023).

Media Nutrient Agar mengandung ekstrak daging sapi (0,3%), pepton (0,5%), dan agar (1,5%) dalam air. Ekstrak daging sapi dan pepton mengandung campuran asam amino dan peptida. Ekstrak daging sapi juga mengandung senyawa yang larut dalam air yang memiliki kandungan makromolekul lain (asam nukleat, lemak, polisakarida) serta vitamin dan

mineral. Selain itu untuk memperkaya media dapat ditambahkan bahan lain seperti ekstrak ragi, tripton dan lain sebagainya (Tantray dkk., 2023).

### 3. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri

Pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor. Agar pertumbuhan bakteri dapat optimal perlu dilakukan pengaturan dan kontrol terhadap faktor – faktor tersebut. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangbiakkan bakteri antara lain :

#### a. Kebutuhan Nutrisi

Kebutuhan nutrisi bakteri dapat disediakan dilaboratorium melalui media pertumbuhan. Media pertumbuhan harus memiliki unsur yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk sintesis organisme baru secara biologis (G.F. Brooks dkk., 2007)

Secara umum mikroorganisme membutuhkan sepuluh unsur yang harus tersedia dalam jumlah besar untuk pertumbuhannya seperti karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, belerang, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, dan besi. Karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat disintesis oleh enam unsur pertama sedangkan empat unsur lainnya memiliki fungsi sebagai kation di dalam sel. Selain unsur makro, beberapa unsur mikro seperti Mn, Zn, Co, Mo, Ni dan Cu serta faktor pertumbuhan, yang mengandung senyawa organik, merupakan persyaratan penting untuk pertumbuhan mikroorganisme (Olopade dkk., 2021).

b. Temperatur

Temperatur dimana mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik dinamakan temperatur optimal. Setiap organisme memiliki temperatur optimal yang berbeda – beda pada pertumbuhannya. Berdasarkan temperatur optimal mikroorganisme dikelompokkan menjadi tiga yaitu psikrofilik, mesofilik dan termofilik. Psikrofilik mampu tumbuh secara optimal pada suhu rendah yaitu 15 - 20°C, mesofilik mampu tumbuh optimal pada suhu 30 - 37°C dan sebagian besar jenis termofilik mampu tumbuh dengan optimal pada suhu 50 – 60 °C. Namun, sebagian besar mikroorganisme adalah (G.F. Brooks dkk., 2007).

c. pH

Salah satu faktor penting yang sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah pH. Bakteri mampu tumbuh secara optimal pada pH yang optimum (6,5 – 7,5). Sebagian besar bakteri memiliki nilai pH minimum dan maksimum sebesar 4 dan 9. Nilai pH dapat mempengaruhi kerja enzim yang digunakan untuk mengkatalis reaksi yang berkaitan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pada lingkungan memiliki pH yang sangat rendah atau tinggi dapat mempengaruhi kerja enzim sehingga mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri tersebut (Suriani, 2013).

d. Kelembaban

Pada umumnya bakteri mampu bertahan pada kondisi lingkungan yang lembab. Air menjadi suatu unsur penting dalam

pertumbuhan bakteri. Kelembaban optimum yang diperlukan bakteri untuk pertumbuhan adalah 85 % (Rudiyansyah & Wahyuningsih, 2015). Biasanya bakteri akan langsung mati jika kondisi lingkungan berubah menjadi kering. Namun, terdapat beberapa bakteri yang mampu bertahan lebih lama pada kondisi lingkungan yang kering (Gupte, 2010).

e. Kebutuhan Oksigen Atmosferik (Aerasi)

Menurut Cappuccino dan Sherrman (2013), bakteri memiliki kemampuan beragam dalam penggunaan oksigen bebas untuk respirasi seluler. Berdasarkan penggunaan oksigen, bakteri dapat dikelompokkan menjadi 5 kategori yaitu :

1) Aerob

Bakteri membutuhkan peranan oksigen sebagai aseptor hidrogen pada proses metabolisme.

2) Mikroaerofil

Pada pertumbuhan bakteri ini memerlukan jumlah penggunaan oksigen yang terbatas. Jumlah oksigen yang berlebih dibandingkan dengan kebutuhan oksigen dapat mengakibatkan kematian pada bakteri ini.

3) Anaerob obligat

Bakteri jenis ini sama sekali tidak dapat tumbuh pada kondisi ada oksigen. Pada metabolismenya tidak diperlukan peranan oksigen sebagai aseptor hidrogen.

#### 4) Anaerob aerotoleran

Bakteri yang bersifat aerotoleran tidak memerlukan oksigen sebagai aseptor elektron terakhir. Namun bakteri ini mampu bertahan hidup pada kondisi terdapat oksigen.

#### 5) Anaerob fakultatif

Bakteri ini mampu hidup dengan atau tanpa oksigen. Bakteri cenderung akan menggunakan oksigen pada respirasi. Namun, pada kondisi lingkungan yang kekurangan oksigen bakteri jenis ini mampu melakukan respirasi seluler secara anaerob menggunakan senyawa seperti nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) atau sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) sebagai aseptor.

#### 4. Talas (*Colocasia esculanta* (L.) Schott)



Gambar 1. Talas : Daun (a), Umbi (b)  
Sumber : (Pawar dkk., 2018)

Talas (*Colocasia esculanta* (L.) Schott) termasuk dalam tanaman herba yang kaya akan gizi terutama pada umbi dan daunnya. Talas menjadi salah satu jenis umbi-umbian yang memiliki potensi sebagai bahan pangan. Tanaman talas mampu tumbuh sepanjang tahun dan dimana saja



tanpa ada persyaratan khusus (Mustikarini dkk., 2019). Umbi talas memiliki kandungan rendah lemak, bebas gluten, dan serat yang cukup tinggi. Selain itu umbi talas mengandung 13–19% karbohidrat dan 1,4% protein, juga kalsium, lemak, fosfor, zat besi, vitamin B, vitamin C, vitamin E dan beta karoten (Dewi dkk., 2016; Hassan, 2014)

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) tanaman talas diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : Tracheophyta  
Subdivisi : Spermatophytina  
Kelas : Magnoliopsida  
Superordo : Liliales  
Ordo : Alismatales  
Famili : Araceae  
Genus : *Colocasia* Schott  
Spesies : *Colocasia esculenta* (L.) Schott

##### 5. Kacang Kedelai



Gambar 2. Kacang Kedelai  
Sumber : (The Scoular Company, 2022)

Kedelai (*Glycine max*) merupakan tanaman semusim jenis kacang polong yang dapat tumbuh di berbagai jenis tanah dan iklim pada wilayah tropis. Suhu optimal untuk pertumbuhan kedelai berkisar 20-30 °C. Tanaman kedelai yang dibudidayakan (*Glycine max* L.) di Indonesia memiliki karakteristik sebagai berikut, tanaman tegak dengan tinggi antara 40 cm - 90 cm, bercabang, memiliki daun tunggal dan daun bertiga, bulu pada daun dan polong tidak terlalu padat dan umur tanaman antara 72 – 90 hari. Ketika sudah matang 95% biji-bijiannya berwarna kuning dan keras. Komposisi gizi dari kedelai dari mineral protein 40% , 35% karbohidrat, lemak 20%, 18 % minyak, dan 5% mineral (Hayati, 2018).

Berdasarkan data dari Integrated Taxonomy Information System (ITIS), tanaman kedelai memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Division : Tracheophyta  
Subdivision : Spermatophytina  
Class : Magnoliopsida  
Superorder : Rosanae  
Ordo : Fabales  
Family : Fabaceae  
Genus : *Glycine* Willd.  
Species : *Glycine max* (L.) Merr.

## 6. Ekstrak Ragi



Gambar 3. Ekstrak Ragi  
Sumber : (Savila, 2022)

Ekstrak ragi merupakan suatu hasil ekstraksi dari ragi khususnya *Saccharomyces cerevisiae*. Ekstrak ragi banyak digunakan dalam industri makanan sebagai penyedap makanan, aditif dan suplemen vitamin serta dapat digunakan sebagai sumber nutrisi untuk media kultur bakteri yang digunakan dalam mikrobiologi dan bioteknologi. Pada prinsipnya ekstrak ragi dihasilkan dari proses autolisis, namun dalam beberapa kasus dalam proses pembuatannya perlu ditambahkan asam atau enzim eksogen (Zarei dkk., 2016).

Sebagian besar mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik pada ekstrak ragi (G.F. Brooks dkk., 2007). Pada ekstrak ragi berisi komponen seluler ragi yang larut dalam air. Ekstrak ragi dapat digunakan sebagai sumber nutrisi dalam media pertumbuhan bakteri karena memiliki kandungan nitrogen, asam amino, vitamin, asam nukleat, mineral, dan

karbohidrat yang dapat digunakan bakteri untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan (Tomé, 2021).

#### 7. Bakteri *Enterobacter aerogenes*



Gambar 4. Koloni *Enterobacter aerogenes* pada Plate MCA  
Sumber : (Allen, 2005)

Spesies *Enterobacter* tersebar luas secara bebas di alam dan ada dapat ditemukan berbagai lingkungan termasuk tanah, air, tempat pengolahan makanan dan rumah tangga, vegetasi, inang vertebrata dan invertebrata, serta dalam kotoran manusia dan hewan (Cooney dkk., 2014). Salah satu bakteri *Enterobacter* yang sering dijumpai adalah *Enterobacter aerogenes*. Secara fenotip dan genotip *Enterobacter aerogenes* serupa dengan *Klebsiella pneumoniae* (Davin-Regli & Pagès, 2015).

a. Klasifikasi bakteri *Enterobacter aerogenes* menurut Soedarto (2015) adalah sebagai berikut :

|         |                       |
|---------|-----------------------|
| Kingdom | : Bacteria            |
| Phylum  | : Proteobacteria      |
| Class   | : Gammaproteobacteria |
| Order   | : Enterobacteriales   |
| Family  | : Enterobacteriaceae  |

Genus : Enterobacter

Species : Enterobacter aerogenes

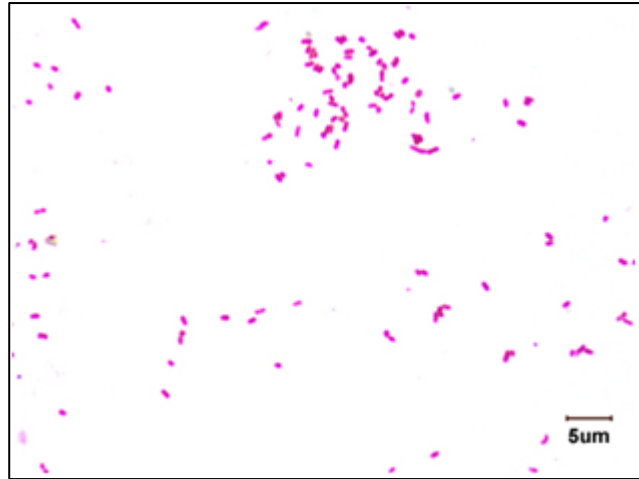
b. Identifikasi Morfologi

Identifikasi bakteri dapat dilakukan melalui dua cara yaitu secara morfologi ataupun secara fisiologi. Secara morfologi identifikasi bakteri diamati melalui bentuk koloni, struktur koloni, bentuk sel, ukuran sel, dan pewarnaan bakteri. Pengamatan morfologi dapat dibagi menjadi dua yaitu pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis, pengamatan makroskopis dilakukan dengan cara mengamati dilihat secara kasat mata, seperti bentuk, warna, tepian, elevasi dan permukaan koloni. Sedangkan pengamatan mikroskopis untuk mengamati bentuk, ukuran, formasi sel serta warna dan sifat yang dihasilkan dari pewarnaan Gram, terdapat 2 kelompok bakteri yaitu Gram positif dan Gram negatif (Cappuccino & Sherman, 2013; Gupte, 2010).

c. Identifikasi Fisiologis

Identifikasi secara fisiologi dapat dilakukan dengan uji biokimia. Uji biokimia dilakukan dengan cara pengujian seperti fermentasi karbohidrat, produksi indol, pengujian *Metyl red*, pengujian *Voges Proskauer*, pemanfaatan sitra, produksi hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S), uji katalase, pengujian oksidase, pengujian protease, reduksi nitrat, uji urease dan lain-lain (Cappuccino & Sherman, 2013; Gupte, 2010).

d. Karakteristik Bakteri *Enterobacter aerogenes*



Gambar 5. Mikroskopik bakteri *Enterobacter aerogenes*  
Sumber : (Fadhilah, 2017)

*Enterobacter aerogenes* merupakan salah satu bakteri Gram-negatif, berbentuk batang lurus, memiliki ukuran  $0,5 \mu\text{m} \times 3,0 \mu\text{m}$ , motil, dan tidak membentuk spora. Bakteri *Enterobacter aerogenes* memiliki koloni berbentuk bulat, cembung, memiliki tepi bervariasi dan berwarna krem hingga putih pudar serta memiliki flagel peritrich yang digunakan untuk bergerak (Environment and Climate Change Canada, 2018; Soedarto, 2015). *Enterobacter aerogenes* mampu tumbuh dengan baik pada suhu  $20 - 37^{\circ}\text{C}$  dengan pH netral (Cooney dkk., 2014). Karakteristik bakteri *E. Aerogenes* dapat ditunjukkan melalui tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Bakteri *Enterobacter aerogenes*

| Karakteristik Dasar           | Keterangan      |
|-------------------------------|-----------------|
| Kapsul                        | Positif         |
| Katalase                      | Positif         |
| Sitrat                        | Positif         |
| Flagella                      | Positif         |
| Gas                           | Positif         |
| Hidrolisis gelatin            | Negatif         |
| Pewarnaan Gram                | Gram negatif    |
| H <sub>2</sub> S              | Negatif         |
| Indol                         | Negatif         |
| Motilitas                     | Positif         |
| MR (Methyl Red)               | Negatif         |
| Reduksi Nitrat                | Positif         |
| OF (Oxidative-Fermentative)   | Fermentatif     |
| Oksidase                      | Negatif         |
| Bentuk                        | Batang          |
| Spora                         | Negatif         |
| TSIA (Triple Sugar Iron Agar) | Asam/Asam + Gas |
| Urease                        | Negatif         |
| VP (Voges Proskauer)          | Positif         |

Sumber : (Aryal, 2022b)

*Enterobaccter aerogenes* termasuk dalam jenis bakteri anaerob fakultif yang mampu melakukan metabolisme secara anaerob atau tanpa oksigen (Converti & Perego, 2002). Pada *Mac Conakey Agar*, koloni *Enterobacter aerogenes* memiliki warna merah muda pada media MCA karena memiliki kemampuan untuk memfermentasikan gula (Environment and Climate Change Canada, 2018). Kemampuan bakteri *E. Aerogenes* dalam memfermentasikan gula ditunjukkan melalui tabel 2.

Tabel 2. Fermentasi Gula

| <b>Fermentasi</b> | <b>Keterangan</b> |
|-------------------|-------------------|
| Arabinosa         | Positif           |
| Arabitol          | Negatif           |
| Selobiosa         | Positif           |
| DNase             | Negatif           |
| Fruktosa          | Positif           |
| Galaktosa         | Positif           |
| Glukosa           | Positif           |
| Gliserol          | Positif           |
| Laktosa           | Positif           |
| Mannitol          | Positif           |
| Mannosa           | Positif           |
| Rhamnosa          | Positif           |
| Trehalosa         | Positif           |
| Xylosa            | Positif           |

Sumber : (Aryal, 2022b)

Reaksi enzimatik pada bakteri *Enterobacter aerogenes* ditunjukkan pada tabel 3 dibawah ini.

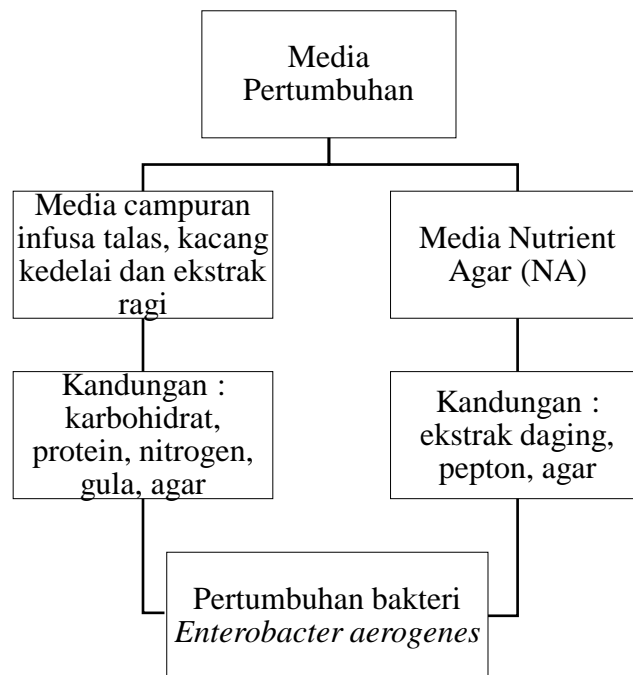
Tabel 3. Reaksi Enzimatik

| <b>Fermentasi</b>              | <b>Keterangan</b> |
|--------------------------------|-------------------|
| Dehidrolase Arginin            | Negatif           |
| Hidrolisis Esculin             | Positif           |
| Gamma-Glutamyl transferase     | Positif           |
| ONPG ( $\beta$ -galactosidase) | Positif           |
| Dekarboksilasi Ornitina        | Positif           |
| Deaminasi Fenilalanin          | Negatif           |
| Reduktase Tetratronat          | Negatif           |

Sumber : (Aryal, 2022b)

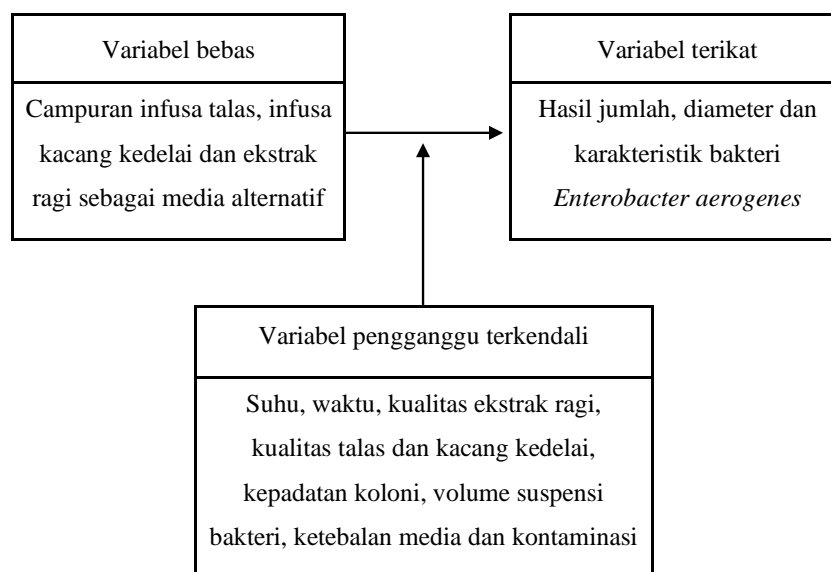


## B. Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka Teori  
Sumber : (Cappuccino & Sherman, 2013)

## C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 7. Hubungan Antar Variabel

#### **D. Hipotesis**

Media alternatif dari campuran infusa talas, infusa kacang kedelai dan ekstrak ragi dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri *Enterobacter aerogenes*.