

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Telaah Pustaka

##### 1. Bakteri

###### a. Definisi Bakteri

Bakteri merupakan makhluk hidup yang sangat kecil, berukuran beberapa mikron dan hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop (Irianto, 2014).

###### b. Bentuk Bakteri

Sel bakteri memiliki bermacam-macam bentuk yang ditentukan berdasarkan dinding sel bakteri yang kaku namun bersifat *permeable* atau dapat ditembus larutan. Beberapa bentuk bakteri sebagai berikut.

###### 1) Batang (basil)

Bakteri yang memiliki bentuk batang (basil) lurus dapat dijumpai pada famili Enterobacteriaceae seperti *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*). Bakteri berbentuk batang terdiri dari:

a) Monobasil, yaitu bakteri dengan bentuk batang tunggal yang dapat dijumpai pada *Salmonella typhi*

b) Diplobasil, yaitu bakteri dengan bentuk batang ganda atau bergandengan dua-dua yang dapat dijumpai pada *Diplobacillus pneumoniae*

- c) Streptobasil, yaitu bakteri dengan bentuk batang tersusun memanjang seperti rantai dapat dijumpai pada *Bacillus anthracis*

## 2) Bulat (*coccus*)

Bakteri yang memiliki bentuk bulat (sferis) atau *coccus* dapat dijumpai pada genus *Staphylococcus*, *Streptococcus* dan lain-lain. Bakteri berbentuk bulat terdiri dari:

- a) *Monococcus*, yaitu bakteri dengan bentuk bulat tunggal dapat dijumpai pada *Neisseria gonorrhoeae* yang merupakan penyebab kencing nanah
- b) *Diplococcus*, yaitu bakteri dengan bentuk bulat ganda atau bergandengan dua-dua dapat dijumpai pada *Diplococcus pneumoniae* yang merupakan penyebab penyakit radang paru
- c) Sarkina, yaitu bakteri dengan bentuk bulat yang terdiri dari 8 bulatan membentuk seperti kubus
- d) *Streptococcus*, yaitu bakteri dengan bentuk bulat tersusun memanjang yang seperti rantai
- e) *Staphylococcus*, yaitu bakteri dengan bentuk bulat berkumpul seperti buah anggur

## 3) Spiral

- a) Koma (*vibrio*)

Bakteri yang memiliki bentuk seperti koma (batang bengkok) atau *vibrio* dapat dijumpai pada bakteri *Vibrio cholera*

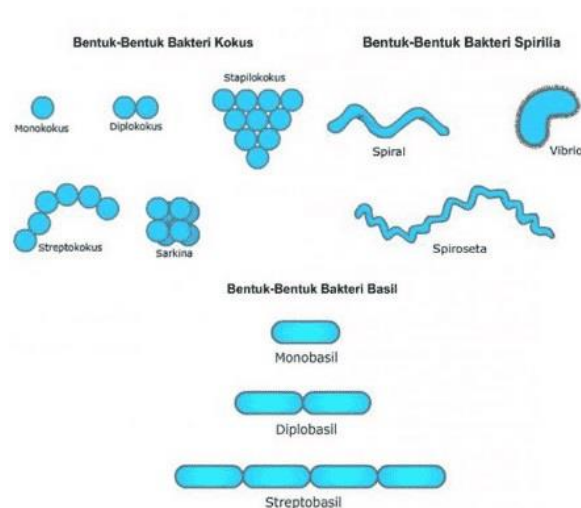
b) Spiral

Bakteri yang memiliki bentuk spiral dapat dijumpai pada *Spirillum sp.*

c) Spirochaeta

Bakteri berbentuk spiral memiliki panjang lengkungan yang berbeda-beda. Bentuk bakteri seperti ini dapat dijumpai pada bakteri *Treponema pallidum* (Irianto, 2014).

Bentuk-bentuk bakteri tersebut dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 1. Bentuk-Bentuk Bakteri  
(Sumber: Fadiel, 2017).

c. Syarat Pertumbuhan Bakteri

Bakteri dapat tumbuh dan bertahan hidup dengan adanya nutrisi dasar dan faktor fisik tertentu. Kebutuhan nutrisi yang diperlukan oleh bakteri terdapat dalam berbagai macam media di laboratorium bakteriologi.

Beberapa komponen yang diperlukan bakteri untuk pertumbuhan, yaitu:

1) Karbon

Karbon adalah nutrisi yang paling penting untuk pertumbuhan bakteri dan sebagai atom pusat untuk struktur dan fungsi sel.

2) Nitrogen

Bakteri mengambil unsur N atau nitrogen digunakan untuk menyintesis protein, DNA dan RNA.

3) Energi

Aktivitas sel bakteri dapat tetap berlangsung dengan adanya energi yang konstan. Energi berperan penting dalam transport aktif dan biosintesis.

4) Vitamin

Vitamin berperan dalam pertumbuhan bakteri dan sebagai koenzim. Vitamin pada bakteri atau mikroorganisme hanya diperlukan dalam jumlah sedikit (mikronutrien).

4) Unsur non-logam

Unsur non-logam yang sering digunakan oleh bakteri yaitu fosfor dan sulfur. Fosfor berperan dalam pembentukan asam nukleat DNA dan RNA bersama nitrogen dan untuk menyintesis Adenosina trifosfat (ATP). Sulfur berperan dalam sintesis protein bersama nitrogen.

#### 5) Unsur logam

Unsur logam ( $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$  dan  $\text{Fe}^{+3}$ ) yang diperoleh dari garam anorganik digunakan bakteri agar proses aktivitas seluler seperti transport electron dapat berjalan secara efisien.

#### 6) Air

Air digunakan sel bakteri untuk membantu nutrient dengan bobot molekul rendah melintasi membrane sel atau sebagai pelarut.

Selain komponen diatas, banyak bakteri yang membutuhkan zat tambahan seperti beberapa asam amino, asam lemak, sel darah merah purin, pirimidin dan kadang asam cuka (Cappuccino dan Sherman, 2014; Hamdiyati, 2011).

#### d. Kondisi Fisik yang Diperlukan untuk Pertumbuhan Bakteri

Setiap bakteri memiliki respon yang berbeda-beda terhadap faktor fisik seperti suhu, kadar air, tekanan osmosis, pH, dan oksigen.

##### 1) Suhu

Pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh tinggi rendahnya suhu. Bakteri pada umumnya dapat hidup pada rentang suhu minus  $5^{\circ}\text{C}$  sampai  $80^{\circ}\text{C}$  (Hamdiyati, 2011). Untuk sebagian besar bakteri yang bersifat patogen dapat tumbuh dengan baik pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Bagi bakteri gram negatif suhu optimal untuk tumbuh yaitu pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  sampai  $35^{\circ}\text{C}$ . Berdasarkan dari suhu

tempat hidupnya, bakteri digolongkan menjadi bakteri yang bersifat *psychrophile* atau dapat hidup pada suhu rendah atau 0°C sampai 20°C dan ada yang dapat hidup pada suhu di bawah 0°C. Bersifat *thermophile* atau dapat hidup pada suhu di atas 40°C. Bersifat *mesophile* atau dapat hidup pada suhu antara 20°C sampai 40°C, seperti bakteri patogen yang menyebabkan penyakit pada manusia (Soedarto, 2015).

## 2) Kadar Air

Mikroba dapat hidup dengan adanya air. Bakteri untuk dapat hidup juga memerlukan air bebas tertentu. Air digunakan sel bakteri untuk membantu nutrient dengan bobot molekul rendah melintasi membran sel atau sebagai pelarut (Cappuccino dan Sherman, 2014).

## 3) Tekanan Osmosis

Tekanan osmosis diperlukan bakteri agar tetap hidup, apabila bakteri berada dalam larutan dengan konsentrasi lebih tinggi dari konsentrasi dalam sel bakteri dapat menyebabkan terjadinya plasmolisis atau keluarnya cairan sel bakteri melalui membran sitoplasma. Media dengan konsentrasi isotonik terhadap sel bakteri merupakan tempat hidup yang paling baik.

## 4) Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) tidak kalah berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Rentang pH optimum untuk pertumbuhan

bakteri antara 6,5 sampai 7,5. Pada sebagian bakteri patogen dapat tumbuh dengan baik pada pH sedikit basa atau pH 7,2 sampai 7,6. Pada bakteri famili Enterobacteriaceae membutuhkan pH yang konstan untuk pertumbuhannya.

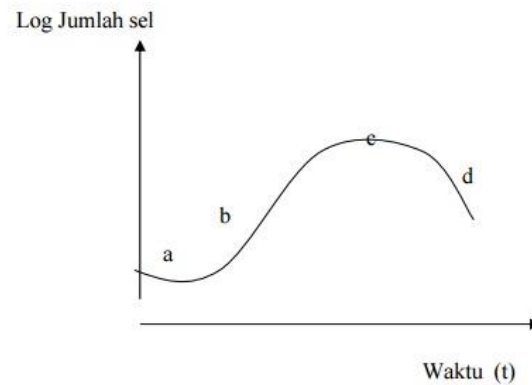
#### 5) Kebutuhan Oksigen

Pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh kebutuhan oksigen. Bakteri yang hanya dapat tumbuh pada kondisi kecukupan oksigen disebut bakteri *aerob*. Bakteri yang dapat tumbuh pada kondisi tanpa oksigen saja disebut dengan bakteri *anaerob*. Bakteri yang dapat tumbuh dan hidup pada kondisi kecukupan maupun kekurangan oksigen disebut bakteri *anaerob* fakultatif. Contohnya bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Hamdiyati, 2011; Elfidasari dkk, 2013).

#### e. Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dapat diartikan sebagai penambahan secara teratur pada semua komponen di dalam sel bakteri. Ukuran sel bakteri ditentukan dari kecepatan pertumbuhan. Semakin cepat pertumbuhan maka semakin cepat ukuran sel bertambah. Sedangkan, umur sel bakteri dapat ditentukan setelah selesai pembelahan sel dan untuk umur kultur bakteri dapat ditentukan dari lama atau waktu inkubasi (Hamdiyati, 2011). Jika kondisi media kultur optimal bagi pertumbuhan dan kehidupan bakteri maka akan terjadi pertumbuhan yang maksimal (Soedarto, 2015).

Pertumbuhan bakteri pada media dapat ditunjukkan dengan kurva pertumbuhan empat fase seperti berikut.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri  
(Sumber: Yulianti, 2019).

Fase pertama (a) yaitu lag fase, dimana bakteri menyesuaikan dengan lingkungan dan menyiapkan untuk memperbanyak diri. Fase kedua (b) yaitu fase logaritmik, dimana jumlah bakteri meningkat secara teratur. Fase ketiga (c) yaitu fase stasioner, dimana bakteri telah melewati kecepatan membelah diri maksimal sehingga kecepatan membelah diri akan mendatar atau *stationary*. Pada fase ini jumlah bakteri yang tumbuh seimbang dengan jumlah bakteri yang mati. Fase keempat (d) yaitu *phase of decline*, dimana bakteri kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri akan melambat dan menurun (Soedarto, 2015).



## 2. Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

### a. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat dilihat pada uraian di bawah ini.

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

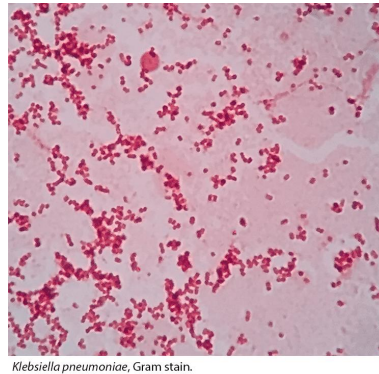
Genus : *Klebsiella*

Spesies : *Klebsiella pneumoniae* (Ramsey, 2011).

### b. Morfologi dan Sifat

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek dengan standar ukuran 0,5  $\mu\text{m}$ , yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini termasuk dalam jenis bakteri yang tidak bergerak (*nonmotil*) dan memiliki kapsul besar. Kapsul polisakarida pada bakteri ini menyebabkan koloni bakteri seperti mukus dan berperan penting dalam virulensi *Klebsiella pneumoniae* (Virawan, 2018).

Secara mikroskopis bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat teramati seperti berikut.



Gambar 3. Morfologi Mikroskopis *Klebsiella pneumoniae* (Sumber: <https://microtosis.com/klebsiella-sample-page/>).

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* bersifat positif glukosa, laktosa dan sitrat. Bakteri ini memberikan hasil negatif indol, oksidase, dan H<sub>2</sub>S. Berdasarkan kebutuhan akan oksigen, *Klebsiella pneumoniae* bersifat *anaerob* fakultatif yang berarti bakteri ini dapat hidup pada lingkungan dengan maupun tanpa oksigen (udara) (Virawan, 2018; Wijaya, 2019).

Morfologi koloni *Klebsiella pneumoinae* pada *MacConkey* agar (MCA) membentuk koloni berlendir (*mucoïd*), berwarna merah muda dan memfermentasi laktosa. Pada agar darah membentuk koloni *mucoïd*, berwarna abu-abu sampai putih dan non hemolitik. Non hemotilik atau gamma hemolitik ( $\gamma$ -hemolisa) berarti tidak mampu melisiskan eritrosit dan terlihat pertumbuhan yang sederhana tanpa ada perubahan pada media. Pada media *Eosin Metylene Blue* (EMB) agar membentuk koloni *mucoïd*, berwarna gelap dan non metalik.

Isolasi pada agar Simmon's sitrat membentuk koloni seperti kubah dan berwarna kuning (Tanzila, 2018).

c. Pertumbuhan dan Pemiakan

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* tumbuh berbentuk batang, pendek, dan dapat membentuk rantai. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat ditumbuhkan pada media *MacConkey* agar. Media *MacConkey* agar sebagai media selektif differensial dan sebagai salah satu media isolasi primer. Pada media ini bakteri yang memfermentasi laktosa seperti *Klebsiella pneumoniae* dapat membentuk koloni *mucoïd* dan berwarna merah muda (Kusuma, 2013).

d. Struktur Antigen

Antigen pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan peningkatan patogenitas. Antigen yang pertama yaitu antigen somatic (antigen O). Antigen O merupakan lipopolisakarida berulang yang tahan terhadap alkohol dan panas. Antigen yang kedua yaitu antigen kapsul (antigen K). Antigen K merupakan kapsul polisakarida yang berada di luar antigen O. Antigen ini berhubungan dengan virulensi (Kusuma, 2013).

e. Patogenitas

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah bakteri yang mampu hidup dimana-mana. Bakteri ini merupakan flora transien yang terdapat di saluran nafas atas dan kulit. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* juga dilaporkan diisolasi dari lingkungan seperti air permukaan, tanah

dan peralatan medis. Bakteri ini sebagai penyebab, pneumonia, infeksi saluran kemih, sepsis, meningitis serta abses hepar (Virawan, 2018).

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri penyebab infeksi nosokomial atau infeksi yang berasal dari rumah sakit. Bakteri ini sering dihubungkan dengan kejadian *Community Acquired Infection* (CAI) yang diperoleh dari komunitas dan *Hospital Acquired Infection* (HAI) yang diperoleh setelah 48 jam perawatan di rumah sakit. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebagai agen penginfeksi dapat menyebabkan infeksi lokal ataupun sistemik, dapat ditransmisikan melalui kateter, instrument bedah, makanan dan susu. Bakteri mampu berpindah tempat atau translokasi sehingga dapat masuk ke peredaran darah (Wijaya, 2019; Veila, 2019).

### 3. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Bakteri

Kultur bakteri murni yang digunakan setiap saat harus dalam kondisi yang baik. Untuk menjaga kualitas kultur bakteri murni tetap dalam kondisi yang baik harus dilakukan penyimpanan dan pemeliharaan terhadap kultur bakteri tersebut. Penyimpanan (preservasi) kultur bakteri memiliki tujuan utama yaitu mereduksi atau mengurangi laju metabolisme bakteri, sehingga perlu dilakukan penentuan teknik penyimpanan atau pengawetan yang tepat. Teknik penyimpanan yang baik harus dapat mempertahankan viabilitas atau daya hidup bakteri (Prastowo, 2019; Setiaji, 2015).

Penyimpanan kultur bakteri dapat dilakukan dengan tujuan jangka pendek dan jangka panjang. Penyimpanan jangka pendek dilakukan untuk keperluan rutin penelitian. Penyimpanan jangka pendek untuk memelihara kultur bakteri di laboratorium merupakan teknik tertua yang digunakan oleh peneliti. Penyimpanan tersebut memerlukan waktu, tenaga dan biaya yang banyak. Penyimpanan kultur bakteri jangka panjang digunakan untuk memperoleh kembali bakteri apabila suatu saat dibutuhkan, sehingga harus mempertahankan daya hidup bakteri. Hal ini dilakukan dalam rangka koleksi dan konservasi plasma nutfah mikroba (Prastowo, 2019; Setiaji, 2015).

Penyimpanan dan pemeliharaan kultur bakteri murni dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti berikut.

a. Peremajaan berkala

Peremajaan berkala merupakan penyimpanan jangka pendek yang dapat dilakukan dengan pemindahan dari media lama ke media baru yang dilakukan dengan rentang waktu yang singkat. Hal tersebut dilakukan untuk keperluan rutin penelitian. Penyimpanan ini tidak dianjurkan untuk jangka panjang. Peremajaan berkala memiliki kendala seperti terjadinya kontaminasi (Prastowo, 2019).

b. Penyimpanan dalam akuades steril

Penyimpanan bakteri dalam akuades steril dilakukan dalam tabung reaksi yang berisi akuades steril kemudian didiamkan pada suhu ruang. Penyimpanan ini biasanya digunakan untuk menyimpan bakteri Gram negatif dengan bentuk batang. Pada penyimpanan ini bakteri memiliki peluang tumbuh dengan lambat, sehingga stabilitas bakteri untuk jangka panjang tidak dapat terjamin (Prastowo, 2019).

c. Penyimpanan dalam minyak mineral

Penyimpanan dalam minyak mineral merupakan penyimpanan bakteri yang sederhana. Penyimpanan dilakukan dengan menambahkan minyak mineral atau paraffin setinggi sekitar 10-20 mm dari permukaan atas media agar. Penyimpanan ini memiliki dasar yaitu mempertahankan daya hidup bakteri, sehingga waktu peremajaan dapat diperpanjang beberapa tahun. Penyimpanan dalam minyak mineral memiliki kelemahan yaitu minyak mineral menyebabkan peremajaan menjadi kotor dan kurang praktis untuk ditransportasi (Prastowo, 2019).

d. Penyimpanan dalam tanah steril

Penyimpanan dalam tanah steril biasanya digunakan untuk bakteri yang membentuk spora seperti *Bacillus sp.* dan *Clostridium sp.* Keuntungan dari penyimpanan ini yaitu biaya murah, disimpan pada suhu ruang dan dapat menjaga stabilitas bakteri (Prastowo, 2019).

e. Penyimpanan metode liofilisasi

Penyimpanan metode liofilisasi atau pengeringan beku (*freeze drying*) merupakan salah satu metode penyimpanan jangka panjang. Penyimpanan metode liofilisasi dilakukan dengan menambahkan lioprotektan sebagai bahan pelindung sel bakteri selama proses liofilisasi atau pengeringan beku. Lioprotektan adalah zat kimia non elektrolit. Penambahan lioprotektan ini dilakukan sebelum proses liofilisasi untuk meminimalisir kerusakan sel bakteri dan untuk mempertahankan daya hidup bakteri (Puspawati dkk, 2010).

Metode liofilisasi umumnya digunakan untuk mengawetkan kultur jangka panjang dan produksi konsentrat kultur starter (Puspawati dkk, 2010). Metode liofilisasi banyak digunakan dan lebih unggul dalam mempertahankan struktur dan fisik. Metode ini menggunakan kombinasi dari metode pembekuan dan pengeringan yang merupakan dua penyimpanan jangka panjang yang paling baik (Rusli, 2017). Dasar metode liofilisasi adalah sublimasi, perubahan langsung dari padatan menjadi gas. Prinsip dari metode liofilisasi adalah pembekuan sampel secara cepat dalam kondisi vakum dengan tujuan untuk menghindari terjadinya kerusakan sampel oleh kristal-kristal es yang terbentuk. Metode ini menitikberatkan pada penghilangan kadar air pada sampel dengan mengatur tekanan dan suhu (Purwaningsih, 2018).

#### 4. Angka Lempeng Total (ALT)

Pada metode penyimpanan jangka panjang seperti liofilisasi harus dapat mempertahankan daya hidup dari bakteri. Untuk mengetahui daya hidup dari bakteri dapat dilakukan dengan metode perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) (Puspawati dkk, 2010). Angka Lempeng Total (ALT) merupakan jumlah mikroba mesofil yang ditemukan dalam per gram atau per mililiter sampel (SNI 7388, 2009).

Prinsip perhitungan ALT dengan *plate count* adalah menumbuhkan hasil seri pengenceran pada media agar dalam cawan petri. Pengenceran yang digunakan yaitu diawali dari 1:10 dan dilakukan kelipatannya. Koloni bakteri yang tumbuh pada media dihitung dan dikalikan dengan kebalikan pengenceran, sehingga diketahui jumlah bakteri tiap gram atau tiap mililiter sampel (Retnaningrum dkk, 2017). Hasil akhir dari perhitungan ALT berupa angka dalam koloni (CFU/*Colony Forming Unit*) per gram atau per mililiter dapat pula koloni per 100 mililiter (Purlianto, 2015).

Perhitungan ALT merupakan salah satu perhitungan jumlah mikroba atau bakteri secara tidak langsung (*indirect count*) (Retnaningrum dkk, 2017). Metode ini dapat dilakukan dengan cara cawan gores (*streak plate*) maupun cawan tuang (*pour plate*). Cara cawan gores (*streak plate*) dilakukan dengan menuangkan suspensi bakteri di atas media agar yang telah padat dan digores menggunakan ose, kemudian diinkubasi. Pada saat menggores di atas media dilakukan dengan baik supaya terjadi

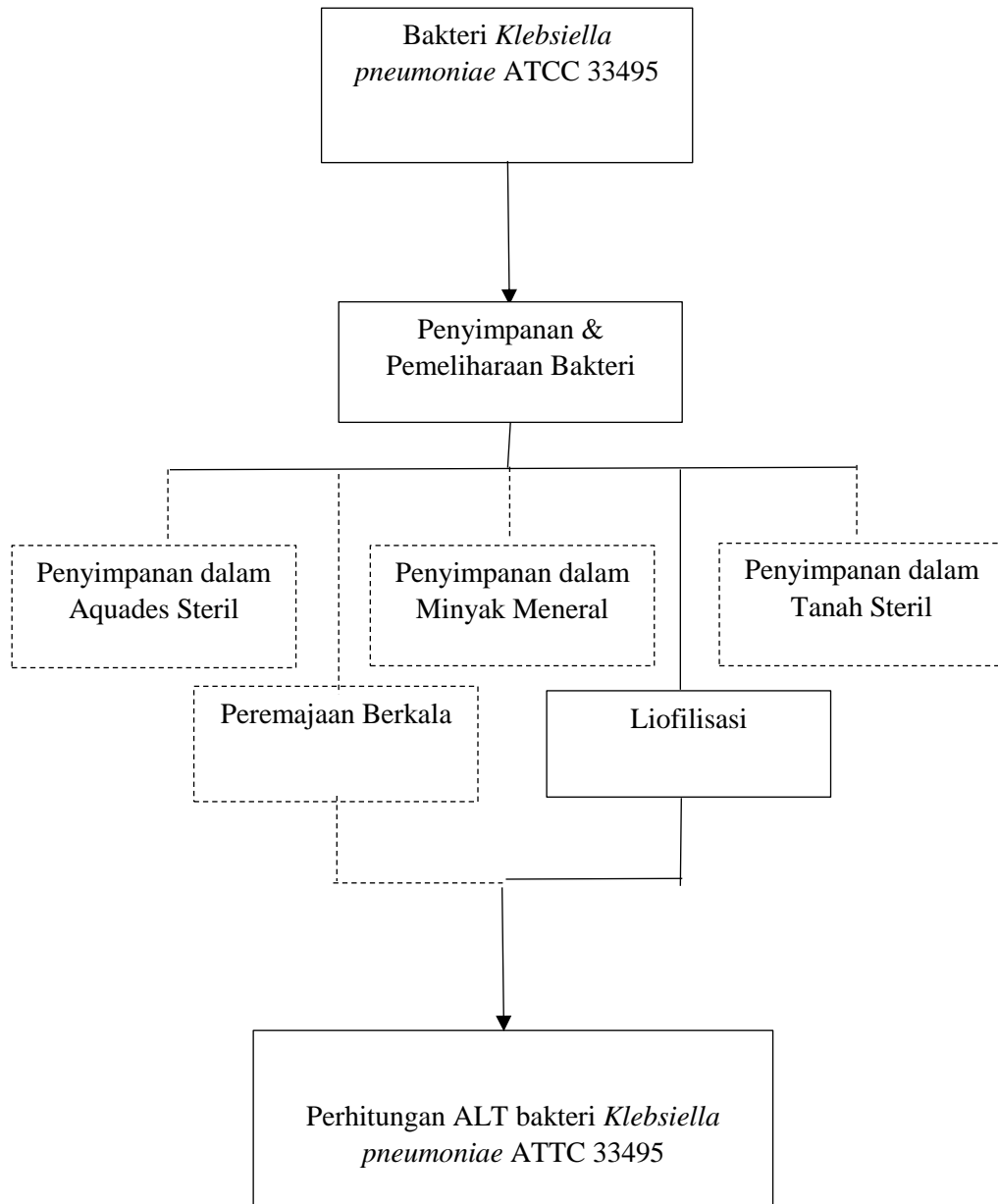


pertumbuhan koloni bakteri secara merata. Cara cawan tuang (*pour plate*) dilakukan dengan mencampur suspensi bakteri dengan media agar suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$ . Dengan cara ini pertumbuhan bakteri terdapat pada permukaan dan di dalam media. Cara hitung cawan merupakan cara paling banyak digunakan karena yang dihitung hanya sel yang hidup, perhitungan dilakukan sekaligus dari beberapa mikroba, dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba dengan pertumbuhan yang spesifik (Gunawan, 2017).

Beberapa syarat dalam melakukan perhitungan ALT/TPC (*Total Plate Count*) yaitu:

- a. Jumlah koloni pada tiap cawan petri adalah 30-300 koloni
- b. Tidak ada koloni yang luasnya melebihi setengah luas cawan petri
- c. Jika pada semua pengenceran didapatkan  $< 30$  koloni maka jumlah koloni yang dihitung adalah pada pengenceran terendah, dan sebaliknya jika didapatkan  $> 300$  maka yang dihitung pada pengenceran tertinggi
- d. Perbandingan jumlah bakteri dari seri pengenceran yang berturut-turut. Apabila jumlah koloni bakteri  $\leq 2$  maka hasil dilakukan rata-rata. Apabila perbandingan  $> 2$  maka yang digunakan adalah jumlah koloni bakteri pada pengenceran sebelumnya
- e. Hasil dirata-rata apabila dengan ulangan telah memenuhi syarat (Retnoningrum, 2017).

## B. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

Keterangan :

- - - - - = tidak diteliti

————— = diteliti

### C. Pertanyaan Penelitian

1. Berapa rerata Angka Lempeng Total (ALT) bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 sebelum diliofilisasi dan disimpan 30 hari pada suhu 4°C?
2. Berapa rerata Angka Lempeng Total (ALT) bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 sesudah diliofilisasi dan disimpan 30 hari pada suhu 4°C?
3. Berapa selisih rerata Angka Lempeng Total (ALT) bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 sebelum dan sesudah diliofilisasi dan disimpan 30 hari pada suhu 4°C?