

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Ordo : Eubacterials
Famili : Micrococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

(Soedarto, 2015)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang biasa ditemukan pada selaput lendir dan kulit manusia sebagai flora normal. Namun, bakteri ini juga dapat menyebabkan infeksi pada manusia (Staf Pengajar FK UI, 1993). *Staphylococcus aureus* bersifat Gram-positif, berbentuk kokus dan berukuran 1µm, apabila diamati dibawah mikroskop memiliki bentuk seperti buah anggur. Selain itu, bakteri ini juga tidak membentuk spora, tidak aktif bergerak, katalase bersifat positif dan memiliki warna pigmen kuning gading atau jingga. *Staphylococcus aureus* tumbuh bebas di alam dan bagian anterior lubang hidung manusia sebagai flora normal. Sekitar 25-30% manusia di dunia sebagai *carrier*. Koloni *Staphylococcus aureus* pada media *Tryptic Soy Agar* memiliki warna koloni kuning karena disebabkan karena adanya faktor virulensi oleh pigmen *staphyloxanthin*. Pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) bakteri ini memfermentasi mannitol dan menurunkan pH

medium yang bersifat asam sehingga mengubah indikator pH merah fenol menjadi kuning. Perbedaan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* lainnya adalah pada media biakan *Mannitol Salt Agar* (MSA) *Staphylococcus epidermidis* tidak memfermentasi mannitol, sedangkan *Staphylococcus aureus* menyebabkan fermentasi mannitol. *Staphylococcus aureus* membentuk zona hemolisis-beta disekeliling koloni pada medium agar Columbia dengan penambahan darah domba defibrinasi sebesar 5% pada suhu inkubasi 37°C (Soedarto, 2015).

Staphylococcus aureus tumbuh optimal pada suhu 37°C. Stafilocokus dapat bertahan terhadap suhu 50°C selama 30 menit dan natrium klorida 9% (Jawetz dkk, 2005). Bakteri tersebut tumbuh optimal pada pH 7,4 dan masa inkubasi selama 24-48 jam (Krihariyani dkk, 2016). Jumlah koloni yang baik dan mudah untuk dihitung pada media cawan yaitu diantara 30 dan 300 (Fardiaz, 1993). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri aerob Gram-positif berbentuk bulat dengan diameter 0,8-0,9 μ , bakteri ini hidup bergerombol dan tidak bersimpai. Pigmen koloni setelah dieramkan selama 24 jam berukuran 2 sampai 4 mm dan memiliki karakteristik tertentu berwarna kuning emas, bulat, cembung, tepian rata, mengkilat dan licin. *Staphylococcus aureus* pada media agar darah membentuk zona hemolisa (Gupte, 1990). Karakteristik koloni bakteri adalah ciri-ciri khusus yang dimiliki oleh suatu koloni bakteri yang tumbuh pada satu medium kultur (Dharmawangsa, 2019).

Staphylococcus aureus melindungi diri terhadap respon imun dan fagositosis hospes dengan cara mengumpulkan fibrinogen di dalam plasma oleh faktor koagulasi darah. Bakteri ini memiliki faktor virulensi, salah satunya adalah koagulasi. Selain itu, *Staphylococcus aureus* mampu merusak sel hospes dengan menghasilkan leukosidin, eksotoksi sitolitik dan exfoliatin (Soedarto, 2015).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan berbagai infeksi dan juga bersifat komensal. Infeksi pada manusia dapat ditularkan melalui invasi jaringan maupun pengaruh toksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Infeksi ditularkan dari sumber patogen pada tubuh, penularan melalui luka terbuka pada kulit atau tempat yang memiliki pertahanan lemah. Misalnya, tempat kateter vaskuler, luka lecet dan luka setelah pembedahan. Infeksi pada kulit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* akan membentuk abses. Serta dapat menyebabkan pneumonia, infeksi sendi dan tulang karena adanya enzim proteolitik. *Staphylococcus aureus* yang menetap pada penderita fibrosis kistik dapat menimbulkan resistensi pada antibiotik (Soedarto, 2015).

2. Media Isolasi Bakteri

Menurut James Cappucino dan Natalie Sherman menyatakan bahwa ada beberapa jenis media isolasi bakteri sebagai berikut:

a. Media Selektif

Media selektif adalah media yang digunakan untuk isolasi bakteri spesifik. Media ini menghambat pertumbuhan satu bakteri

dan memungkinkan pertumbuhan bakteri jenis lain karena adanya kandungan zat-zat kimia didalamnya, sehingga memudahkan isolasi bakteri (Cappucino dan Sherman, 2014).

1) Agar Feniletil Alkohol

Isolasi organisme Gram-positif sebagian besar menggunakan media ini. Pertumbuhan organisme Gram-positif dihambat oleh adanya feniletil alkohol, dengan membentuk koloni-koloni visibel dengan jumlah dan ukuran yang lebih kecil dibandingkan pada media lain (Cappucino dan Sherman, 2014).

2) Agar Kristal Violet

Media ini merupakan media semi-selektif untuk sebagian besar pertumbuhan bakteri Gram-negatif. Pewarna Kristal violet memberikan efek penghambatan pada organisme Gram-positif (Cappucino dan Sherman, 2014).

3) Agar NaCl 7,5%

Kebanyakan organisme dapat dihambat oleh media ini, kecuali mikroorganisme halofilik atau mikroorganisme yang suka garam. Media ini paling bermanfaat untuk deteksi *Staphylococcus* (Cappucino dan Sherman, 2014).

b. Media Selektif atau Diferensial

Media selektif atau diferensial mengandung zat kimia setelah inokulasi dan inkubasi, yang menghasilkan perubahan karakteristik tampilan pertumbuhan bakteri atau disekeliling koloni.

Sehingga media ini dapat membedakan kelompok-kelompok organisme secara morfologis dan biokimia. Terkadang, media selektif dan diferensial digabungkan untuk mendapatkan karakteristik tertentu. Misalnya, agar *MacConkey* yang mengandung Kristal violet dan garam-garam empedu membiarkan organisme Gram-negatif tumbuh dan menghambat pertumbuhan organisme Gram-positif. *MacConkey* juga mengandung substrat laktosa dan indikator pH merah netral untuk membedakan koloni memfermentasi laktosa merah dari koloni yang tidak memfermentasi laktosa yang tembus cahaya (Cappucino dan Sherman, 2014). Contoh jenis media sebagai berikut:

1) Agar Garam Manitol

Media agar garam manitol mengandung NaCl 7,5% yang dapat menghambat sebagian besar bakteri selain stafilokokus dan mengandung karbohidrat manitol yang dapat difermentasikan oleh beberapa stafilokokus fenol merah dan indikator pH. Stafilokokus yang tidak memfermentasi manitol tidak menghasilkan perubahan warna, sedangkan stafilokokus yang memfermentasi warna membentuk zona kuning disekitar pertumbuhannya (Cappucino dan Sherman, 2014).

2) Agar *MacConkey*

Kristal violet didalam agar *MacConkey* memungkinkan isolasi organisme Gram-negatif dengan menghambat

pertumbuhan organisme Gram-positif. Diferensiasi bakteri enterik kemungkinan oleh garam-garam empedu, karbohidrat laktosa dan indikator pH merah netral. Kelompok bakteri enterik (Cappucino dan Sherman, 2014):

a) *Basilus* Koliform

Permukaan bakteri ini berwarna merah dan menghasilkan asam sebagai hasil fermentasi laktosa. Jumlah asam lebih banyak dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan spesies koliform lain. Asam mengendapkan garam-garam empedu kemudian diikuti dengan absorpsi merah netral sehingga membentuk warna merah pada sekeliling koloni (Cappucino dan Sherman, 2014).

b) *Basilus* Disentri, Tifoid dan Paratifoid

Bakteri ini tidak menghasilkan asam karena tidak memfermentasi laktosa. Koloni tidak berwarna dan transparan(Cappucino dan Sherman, 2014).

3) Agar Eosin-Metilen Biru (Levine)

Diferensiasi antara fermenter dan bukan fermenter laktosa enterik kemungkinan terjadi karena adanya pewarna eosin, laktoasa dan metilen biru. Sebagian besar asam dan mengendapkan pewarna ke permukaan pertumbuhan menyebabkan koloni *E.coli* berwarna biru-hitam dengan kilap

hijau mentalik. *Enterobacter aerogenes* memiliki koloni berwarna merah muda, tebal dan berlendir. Bakteri yang tidak memfermentasi laktosa menghasilkan warna yang transparan. Pada media ini organisme Gram-negatif lebih melimpah karena secara parsial menghambat organisme Gram-positif (Cappucino dan Sherman, 2014).

c. Media yang Diperkaya

Media yang diperkaya adalah media yang ditambahkan bahan-bahan dengan nutrisi tinggi. Bahan bernutrisi tinggi seperti, serum, darah atau ekstrak khamir untuk kultivasi organisme-organisme selektif (Cappucino dan Sherman, 2014).

1) Agar Darah

Darah yang ditambahkan dalam media ini adalah bahan pengayaan untuk kultivasi organisme-organisme selektif misalnya, *Streptococcus* spp. Beberapa mikroorganisme memiliki sifat hemolitik pada darah. Klasifikasi aktivitas hemolisis streptokokus (Cappucino dan Sherman, 2014):

a) Hemolisis Gama

Hemolisis gama tidak terjadi lisis pada sel darah merah sehingga tidak ada perubahan yang signifikan di sekeliling koloni (Cappucino dan Sherman, 2014).

b) Hemolisis Alfa

Hemolisis alfa terjadi lisis pada sel darah merah tetapi tidak sempurna. Mereduksi hemoglobin menjadi meremoglobin, membentuk halo berwarna kehijauan di sekeliling pertumbuhan bakteri (Cappucino dan Sherman, 2014).

c) Hemolisis Beta

Hemolisis beta terjadi lisis pada sel darah merah secara sempurna dan penggunaan hemoglobin oleh organisme yang membentuk zona jernih disekeliling koloni yaitu, streptolisin O dan streptolisin S. Pada kondisi tekanan oksigen yang berkurang dapat memperlihatkan hemolisis subpermukaan yang disebabkan oleh streptolisin O dengan meningkatkan reaksi hemolitik ketika agar lempeng darah digores dan ditusuk secara bersamaan (Cappucino dan Sherman, 2014).

3. *Blood Agar Plate* (BAP)

Blood Agar Plate (BAP) merupakan media biakan yang diperkaya dengan esensial darah yang telah melewati proses defibrinasi. Darah mengandung nutrisi yang dibutuhkan bagi pertumbuhan bakteri. Eritrosit dalam darah dapat membedakan bakteri patogen berdasarkan daya hemolisis. Darah domba yang terkandung dalam *Blood Agar Plate* (BAP) sebesar 5-10% (Krihariyani dkk, 2016).

Agar darah adalah nutrisi agar atau *base* agar darah komersial yang steril dengan penambahan darah domba. Hal itu untuk mengetahui daya hemolisis organisme dan mendorong pertumbuhan organisme dari pertumbuhan yang buruk atau tidak tumbuh sama sekali pada agar nutrisi (Collins dan Lyne's, 1989).

4. Darah Manusia

Darah manusia mengandung karbohidrat, lemak dan protein. Pencernaan manusia menghasilkan karbohidrat dalam darah. Proses pencernaan manusia berawal dari mulut, kerongkongan, lambung, usus halus, karbohidrat masuk melalui cairan limfatik lalu ke arteri kapiler kemudian mengalir melalui portae vena hati dan sebagian masuk ke usus halus. Plasma darah manusia mengandung albumin, hormon, antikoagulan, berbagai jenis garam dan protein (Turista dan Puspitasari, 2019).

Komponen darah manusia yang kedaluwarsa masih memperlihatkan warna seperti darah yang masih segar. Akan tetapi, secara hematologi darah yang kedaluwarsa sudah tidak boleh ditransfusikan. Faktor-faktor pembekuan dalam darah manusia yang kedaluwarsa sudah sangat berkurang, sehingga telah memenuhi syarat untuk bahan pembuatan medium biakan. Karena dalam pembuatan medium biakan harus didefibrinasi untuk menghilangkan faktor pembekuan. Darah manusia yang kedaluwarsa masih memiliki

kandungan nutrisi dan faktor pertumbuhan untuk pertumbuhan kuman (Djannatun dkk, 2019).

Palang Merah Indonesia (PMI) adalah perhimpunan nasional yang berdiri atas asas perikemanusiaan dan atas dasar sukarela dengan tidak membedakan golongan, bangsa dan politik. Palang Merah Indonesia sebagai fasilitas pelayanan kesehatan yang dibutuhkan oleh pasien gawat darurat dalam waktu segera untuk menyelamatkan kehidupannya. Palang Merah Indonesia (PMI) memiliki berbagai kegiatan seperti, pemberian pelayanan darah, pendidikan dan pelatihan Kepalangmerahan, pembinaan relawan, penyebarluasan informasi Kepalangmerahan dan pemberian pelayanan kesehatan dan sosial (PP No. 7, 2019).

Pada bank darah, darah donor manusia ditampung dan dimasukkan kedalam kantong plastik secara aseptik dan diberikan antikoagulan yaitu *Citrat-Fosfat Dekstose* (CPD) (Mudatsir, 2010). Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 91 Tahun 2015 Tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah menunjukkan bahwa darah kedaluwarsa adalah darah yang sudah melewati tanggal kedaluwarsa dan tidak dapat digunakan untuk transfusi. Tanggal kedaluwarsa darah merupakan tanggal terakhir darah atau komponen darah yang masih bisa digunakan untuk transfusi. Biasanya tanggal kedaluwarsa ditetapkan oleh Unit Transfusi Darah (UTD) yang menyalurkan darah tersebut. Darah yang sudah kedaluwarsa harus

dikeluarkan dari tempat penyimpanan kemudian dimusnahkan di Rumah Sakit atau dikembalikan ke Unit Transfusi Darah (UTD) sebagai limbah medis. Darah kedaluwarsa merupakan salah satu limbah cair yang terkontaminasi dan harus dimusnahkan, mengacu pada peraturan perundang-undangan yang berlaku. Unit Transfusi Darah (UTD) adalah fasilitas pelayanan kesehatan yang menyelenggarakan donor darah, penyediaan darah dan pendistribusian darah. Satu kantong darah berisi 350-450 ml darah tergantung dengan berat badan pendonor. Pendonor dengan berat badan ≥ 45 kg dapat diambil darah 350ml, sedangkan berat badan ≥ 55 kg diambil darah 450ml (PMK No 91, 2015). Darah manusia mempunyai kemiripan nutrisi yang terkandung dalam darah domba. Penggunaan darah manusia yang kedaluwarsa dapat menjadi solusi pengganti darah domba dalam pembuatan media *Blood Agar Plate* (BAP) di laboratorium pendidikan kesehatan yang mempunyai kesulitan dalam pengadaan darah domba.

5. Agar Darah Domba

Agar darah domba merupakan media “standar emas” yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri kokus, seperti *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* dan *Staphylococcus aureus* (Russell dkk, 2006). Agar darah domba dibuat dengan konsentrasi 5-10% darah domba, dan proses pembuatan pada suhu 50-60°C (Krihariyani dkk, 2016).

Darah domba yang digunakan untuk pembuatan media agar dikumpulkan dari tusukan hewan dibagian vena jugularis secara aseptis. Darah dapat digunakan dalam masa simpan 2 sampai 7 hari pada suhu penyimpanan 4°C dalam wadah plastik (Anand dkk, 2000). Defibrinasi dilakukan selama pengumpulan dalam kantong untuk mencegah pembekuan darah (Russell dkk, 2006).

Darah domba memiliki kandungan karbohidrat, lemak, protein, asam amino, natrium, kalium, glukosa, magnesium, mangan, tembaga, kobal, urea, kreatinin, yodium, fosfat dan seng (Djannatun dkk, 2019). Variasi makan domba memengaruhi kadar protein dalam darah, sedangkan kadar trigliserida tidak terpengaruh oleh variasi makan. Domba dewasa normal mengandung 9,0-11,1 eritrosit, 32,0-37,0 hematokrit dan 13,0 hemoglobin dalam darah. Jumlah eritrosit dalam darah domba dipengaruhi oleh suplementasi vitamin E. Eritrosit dalam darah domba berfungsi untuk melihat hemolisis yang digunakan sebagai bahan tambahan media *Blood Agar Plate* (BAP) (Turista dan Puspitasari, 2019). *Staphylococcus aureus* membentuk zona hemolisis-beta pada medium Columbia agar dengan darah domba defibrinasi sebesar 5% (Soedarto, 2015).

6. Karakteristik Biakan Mikroorganisme

Karakteristik mikroorganisme adalah perbedaan tampilan makroskopik pertumbuhan organisme dalam berbagai media (Capuccino dan Sherman, 2014). Berikut ini adalah uraian pola-pola

pertumbuhan mikroorganisme pada media biakkan agar lempeng nutrien. Media agar lempeng nutrien memperlihatkan koloni yang terpisah dengan baik serta dievaluasi sebagai berikut:

a. Bentuk

- 1) Rizoid: pertumbuhan yang menyebar seperti akar
- 2) Takberaturan: batas tepi yang berlekuk-lekuk
- 3) Sirkuler: batas tepi yang tidak terputus

b. Ukuran: besar, sedang, kecil atau titik

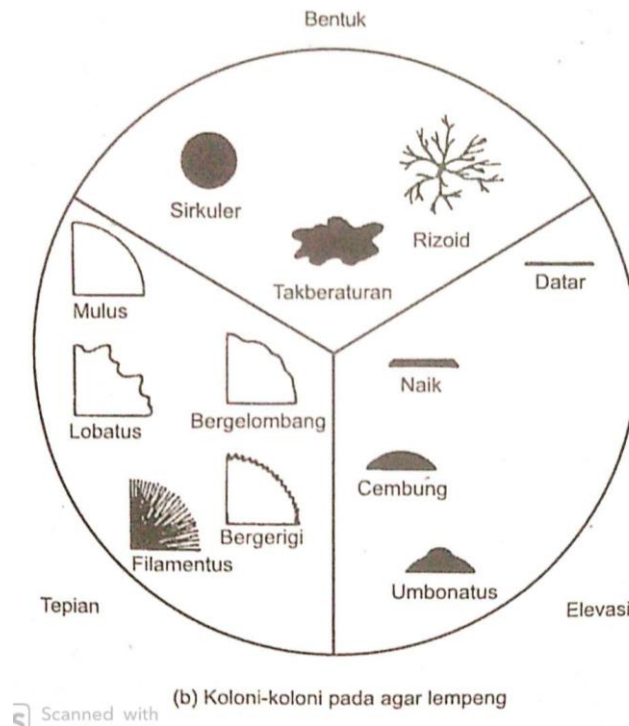
c. Pigmentasi: warna yang muncul pada permukaan koloni

d. Tepian

- 1) Filamentus: tepian yang menyebar dan seperti benang
- 2) Bergerigi: tepian yang tampak seperti gerigi
- 3) Bergelombang: tepian yang berlekuk seperti gelombang
- 4) Lobatus: tepian yang berlekuk mencolok
- 5) Mulus: tepian rata dan jelas

e. Elevasi: derajat kenaikan pertumbuhan koloni pada permukaan media agar

- 1) Umbonatus: menaik dengan bagian tengah yang cembung
- 2) Cembung: berbentuk seperti kubah
- 3) Naik: sedikit naik
- 4) Datar: peningkatan yang tidak terlihat

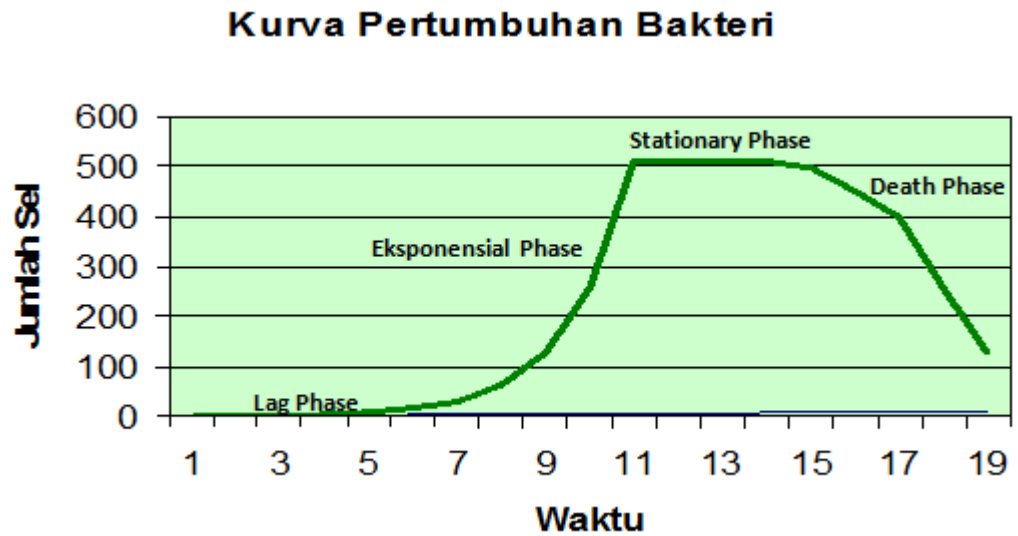


Gambar 1. Koloni-koloni pada Agar Lempeng
Sumber: Capuccino dan Sherman, 2014.

7. Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan adalah jumlah kuantitas massa sel yang meningkat dengan terbentuknya sel-sel baru. Proses pertumbuhan tergantung dari kemampuan sel dalam membentuk protoplasma baru dari nutrient yang tersedia di lingkungan. Pada bakteri pertumbuhannya secara aseksual atau disebut dengan pembelahan biner. Pembelahan biner berlangsung dengan interval yang teratur dengan penambahan atau kelipatan secara eksponensial (Riadi, 2016).

Fase pertumbuhan bakteri merupakan fase dimana terjadinya pembelahan sel bakteri yang melalui beberapa fase yaitu, fase lag, fase logaritma/exponensial, fase stasioner dan fase kematian (Riadi, 2016).



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

a. Fase Lag

Fase lag adalah fase penyesuaian bakteri dengan lingkungannya yang baru. Lama fase lag pada bakteri bervariasi, tergantung pada kondisi pH, komposisi media, suhu, aerasi, jumlah sel pada inoculum awal dan sifat fisiologis suatu mikroorganisme pada media sebelumnya. Pada saat sel telah menyesuaikan diri dengan lingkungannya yang baru maka sel mulai membelah diri hingga mencapai populasi yang maksimum. Fase ini disebut fase logaritma atau fase eksponensial. Pada fase ini sel tidak mengalami penambahan populasi, melainkan sel mengalami perubahan dalam komposisi kimia dan bertambah ukuran, substansi intraseluler bertambah (Riadi, 2016).

b. Fase Logaritma/ Eksponensial

Fase logaritma atau eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial ini sangat dipengaruhi oleh kadar nutrient dalam media, suhu, inkubasi aerasi dan kondisi pH. Ketika derajat pertumbuhan bakteri telah menghasilkan populasi yang maksimum, maka akan terjadi keseimbangan antara sel yang mati dan jumlah sel yang hidup (Riadi, 2016).

c. Fase Stasioner

Fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Sehingga jumlah keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi disebabkan adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Setelah fase ini, dilanjutkan dengan fase kematian yang melampaui laju pertumbuhan, sehingga terjadi penurunan populasi bakteri (Riadi, 2016).

d. Fase Kematian

Fase kematian adalah fase dimana laju kematian lebih besar (Riadi, 2016).

8. Faktor Lingkungan yang Memengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

Menurut Jawetz, Melnick dan Adelberg's faktor lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yaitu :

a. Temperatur

Mikroba memiliki temperatur optimal yang berbeda-beda untuk tumbuh, tergantung dengan jenis mikroba tersebut. Pada temperatur 50-60°C adalah temperatur yang optimal untuk bentuk *thermophilic* tumbuh; pada temperatur 30-37°C adalah temperatur yang optimal untuk bentuk *mesophilic* tumbuh; dan pada temperatur 15-20°C adalah temperatur yang optimal untuk bentuk *mesophilic* tumbuh. Kebanyakan organisme adalah *mesophilic*, temperatur 30°C merupakan temperatur yang optimal untuk berbagai bentuk organisme hidup bebas dan temperatur pada tubuh inang adalah temperatur yang optimal untuk hewan yang berdarah panas (Jawetz, 2005).

b. Konsentrasi Ion Hidrogen (pH)

Organisme memiliki pH optimal yang sempit. pH harus ditentukan secara empiric untuk masing-masing spesies. Pada pH 6,0-8,0 *neotralophiles* tumbuh dengan baik. pH optimal rendah 3,0 dimiliki oleh *acidophiles* dan *alkalophiles* memiliki pH optimal setinggi 10,5 (Jawetz, 2005).

Mikroorganisme mengatur pH internal melebihi kisaran pH eksternalnya. *Alkalophiles* mempertahankan pH internal berkisar 9,5

melebihi pH eksternal berkisar 9,0 – 11,0; *neutrophiles* mempertahankan pH internal berkisar 7,5 melebihi pH eksternal yang berkisar 5,5 – 8,5; dan. *Acidophiles* mempertahankan pH internal berkisar 6,5 melebihi pH eksternal yang berkisar 1,0 - 5,0. pH internal diatur oleh bagian dari membrane sitoplasma yaitu sistem transport proton (Jawetz, 2005).

c. Nutrien

1) Sumber Karbon

Beberapa bakteri mampu mereduksi karbondioksida menggunakan energi fotosintetik. Organisme tersebut termasuk kelompok autotrof yang dimana tidak membutuhkan nutrien organik untuk tumbuh. Kemosintotrof adalah salah satu dari kelompok autotrof, yang dimana organisme tersebut membutuhkan substrat organik untuk tumbuh, seperti thiosulfat atau hidrogen sebagai reduktan dan karbondioksida sebagai karbon. Sedangkan karbon organik dalam bentuk yang dapat diasimilasi dibutuhkan oleh heterotrof untuk tumbuh. Sejumlah reaksi biosintetik membutuhkan karbondioksida. Organisme respiratif menghasilkan karbondioksida lebih dari cukup untuk memenuhi kebutuhannya. Akan tetapi, sumber karbondioksida dibutuhkan oleh organisme lain untuk medium pertumbuhannya (Jawetz, 2005).

2) Sumber Nitrogen

Komponen utama dari protein dan asam nukleat yaitu nitrogen, sebesar $\pm 10\%$ dari berat kering sel bakteri. Mikroorganisme memiliki kemampuan yang beragam untuk mengasimilasi nitrogen, kemungkinan nitrogen disuplai dalam bentuk yang tidak sama. Ion amonium (NH_4^+) adalah bentuk paling tereduksi dari hasil akhir jalur asimilasi nitrogen. Nitrit (NO_2^-) dan nitrat (NO_3^-) diasimilasi secara reduksi oleh kebanyakan mikroorganisme menjadi amoniak (NH_3). Jalur asimilasi dan jalur asimilasi merupakan jalur yang berbeda. Jalur asimilasi digunakan organisme sebagai elektron penerima terminal dalam respirasi, atau yang dikenal sebagai denitrifikasi dan menghasilkan gas nitrogen (N_2) (Jawetz, 2005).

3) Sumber Belerang

Belerang merupakan komponen dari banyak substansi organik sel. Zat tersebut ditemukan dalam rantai samping metionil protein serta sisteinil dan membentuk struktur beberapa koenzim. Belerang dioksidasi menjadi sulfat (SO_4^{2-}) oleh banyak mikroorganisme autotropik. Kemudian oleh beberapa mikroorganisme sulfat (SO_4^{2-}) direduksi lagi menjadi hidrogen sulfida (H_2S) (Jawetz, 2005).

4) Sumber Phospor

Mikroorganisme membutuhkan fosfat (PO_4^{3-}) sebagai komponen ATP, nukleat dan koenzim (NAD, NADP flavin). Dinding sel, lipid (fosfolipid, lipid A), metabolit komponen, beberapa protein dan beberapa polisakarida kapsul adalah bergugus fosfat yang diasimilasi sebagai fosfat anorganis bebas (Jawetz, 2005).

5) Sumber Mineral dan Vitamin

Enzim banyak membutuhkan mineral ion ferrum (Fe^{2+}) dan ion magnesium (Mg^{2+}) terdapat pada turunan porifirin: dalam koenzim peroksidase dan sitokrom ditemukan besi, magnesium dalam molekul klorofil. Kesatuan dan fungsi ribosom sangat diperlukan K^+ dan Mg^{2+} . Na^+ banyak dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme laut. Dinding sel Gram-positif membutuhkan Ca^+ , namun pada sel Gram-negatif tidak. Selain ion K^+ , Mg^{2+} , Na^+ dan Fe^{2+} ada mineral lain seperti Mo_2^+ , Co_2^+ , Cu^{2+} dan Zn_2^+ yang dibutuhkan (Jawetz, 2005).

Media harus mengandung berbagai elemen yang penting untuk pertumbuhan organisme baru.pada umumnya adalah: (1) hydrogen donor dan penerima: sekitar 2 g/L, (2) sumber karbon, sekitar 1 g/L: (3) sumber nitrogen: sekitar 1 g/L, (4) mineral: phosphor dan belerang: masing-masing sekitar 50 mg/L, (5) elemen

trace, masing-masing 0,1 – 1 mg/L, (5) faktor pertumbuhan: purin, pirimidin, asam amino: masing-masing sekitar 50mg/L; vitamin masing-masing 0,1 - 1 mg/L (Jawetz, 2005).

Medium sintetis yang sudah diketahui karakteristik dan konsentrasi yang tepat perlu dipersiapkan untuk mempelajari metabolisme mikroba. Menggunakan bahan-bahan alami lebih murah dan sederhana seperti protein pencernaan, ekstrak ragi dan substansi serupa. Mikroba yang hidup bebas tumbuh baik pada ekstrak ragi, namun ada beberapa mikroba yang hanya dapat tumbuh dengan media khusus seperti pada darah atau ekstrak jaringan tumbuhan. Ada mikroba yang hanya tumbuh didalam sel eukariota (seperti *Chlamydia trachomatis*) dan tidak dapat ditumbuhkan secara *in vitro* (seperti *Treponema pallidum*) (Jawetz, 2005).

Asam amino adalah salah satu senyawa tunggal yang dapat bertindak sebagai sumber energi, sumber nitrogen dan sumber karbon pada kebanyakan organisme. Apabila bahan nonsintetik (alami) tidak mencukupi boleh menambahkan nutrisi tertentu (Jawetz, 2005).

d. Oksigen (O₂)

Mikroorganisme membutuhkan gas oksigen (O₂) sebagai oksidan untuk respirasinya. Namun, beberapa mikroorganisme menggunakan oksidan alternatif meliputi sulfat (SO₄²⁻), karbondioksida (CO₂) dan nitrat (NO₃⁻) (Jawetz, 2005).

Adapun menurut Tim Mikrobiologi Kedokteran FK Universitas Brawijaya menyebutkan bahwa penggolongan bakteri berdasarkan kebutuhan oksigen meliputi:

- 1) Bakteri aerob mutlak, yaitu bakteri yang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya.
- 2) Bakteri anaerob mutlak, yaitu bakteri yang tidak membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya.
- 3) Bakteri anaerob aerotoleran, yaitu bakteri yang tidak mati tanpa adanya oksigen.
- 4) Bakteri anaerob fakultatif, yaitu bakteri yang dapat tumbuh dengan baik karena adanya oksigen maupun tidak.
- 5) Bakteri mikroaerofilik, yaitu bakteri yang pertumbuhannya membutuhkan oksigen rendah.

e. Cahaya atau Sinar

Cahaya atau sinar dibutuhkan oleh beberapa bakteri untuk proses fotosintesis yang menghasilkan oksigen dan bahan organik. Beberapa bakteri mampu menyimpan energi sinar matahari untuk membuat air sebagai reduktan untuk karbondioksida (Jawetz, 2005).

f. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan proses pembunuhan seluruh organisme yang ada pada preparat. Waktu yang dibutuhkan untuk mensterilkan kultur yaitu beberapa waktu setelah diberikan pengobatan. Dipertimbangkan juga waktu sterilisasi masih ada

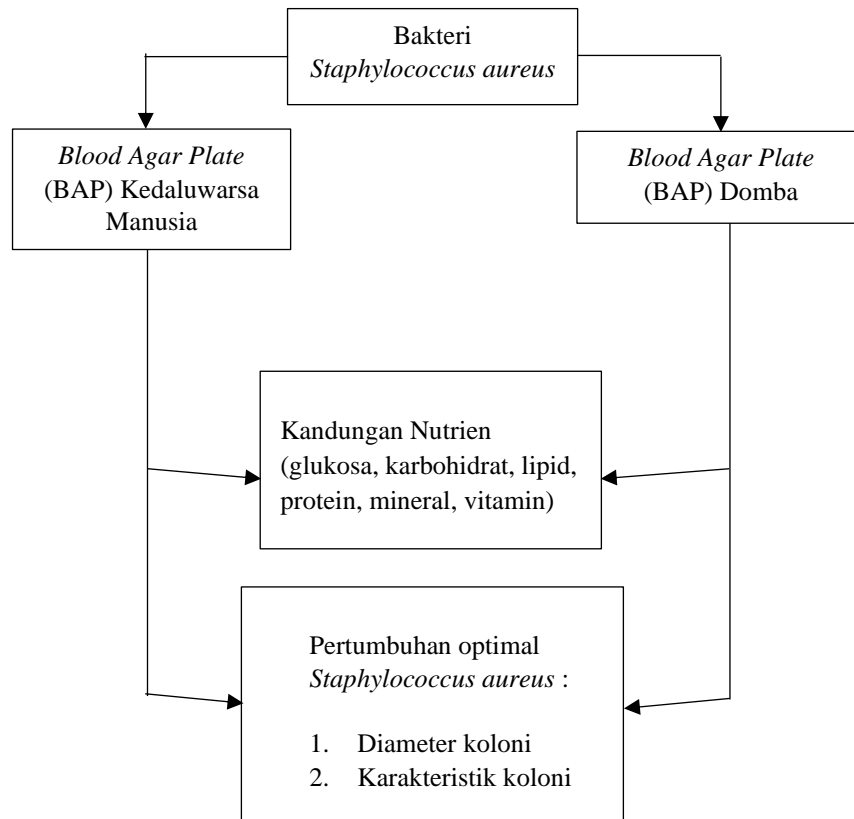
kemungkinan satu organisme yang masih hidup akibat dari populasi yang menjadi heterogen berkenaan dengan sensitivitas agen inaktivasi (Jawetz, 2005).

Sterilisasi alat menggunakan cara pemanasan basah yaitu dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit hingga terbebas dari mikroorganisme lain. Alat atau bahan yang akan digunakan dibungkus kertas biasa sebelum dimasukkan kedalam autoklaf dan diletakkan dalam posisi rebah. Metode sterilisasi dengan menggunakan udara panas atau yang disebut oven diperlukan suhu 160-170°C selama 1-2 jam (Tim Mikrobiologi FK Unibraw, 2003).

g. Biakan Murni

Biakan murni merupakan biakan yang bebas dari semua tipe organisme lain. Biakan murni sangat penting untuk mempelajari sifat-sifat suatu organisme. Hal ini dilakukan dengan cara mengisolasi suatu mikroorganisme dari seluruh sel lainnya (Jawetz, 2005).

B. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

C. Hipotesis dan Pertanyaan Penelitian

1. Hipotesis

Media BAP kedaluwarsa manusia efektif dapat menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bisa digunakan sebagai pengganti media agar darah domba.

2. Pertanyaan Penelitian

- a. Berapa rerata diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media BAP kedaluwarsa manusia?

- b. Berapa rerata diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media BAP domba?
- c. Berapa selisih rerata diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media BAP kedaluwarsa manusia dan domba?
- d. Berapa persentase dan tingkat efektivitas pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media BAP kedaluwarsa manusia dan domba?
- e. Apakah ada perbedaan ukuran diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditumbuhkan pada media agar darah manusia dan domba?
- f. Bagaimana karakteristik morfologi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditumbuhkan pada BAP kedaluwarsa manusia dan domba?
- g. Apakah darah manusia efektif dapat digunakan sebagai pengganti darah domba untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*?