

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

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

##### **1. Media Agar Darah Manusia Kedaluwarsa**

###### **a. Darah Donor Manusia**

Darah lengkap merupakan darah yang diambil langsung dari pendonor yang dimasukkan dalam kantong darah aseptik dan berisi antikoagulan yang berguna untuk mencegah terjadinya penggumpalan darah. Kemasan kantong darah disimpan pada suhu 2-8<sup>0</sup>C. Batas waktu simpan darah lengkap selama 35 hari (Rahmawati, 2005).

Seluruh komponen yang terkandung dalam darah manusia kadaluwarsa masih memperlihatkan warna seperti darah segar, namun darah manusia kadaluwarsa tidak boleh ditransfusikan kepada pasien. Faktor pembekuan yang terdapat di dalam darah manusia kadaluwarsa sudah sangat berkurang, dan hal ini memenuhi persyaratan untuk pembuatan medium biakan, karena darah yang dibutuhkan harus terdefibrinasi (Djannatun dkk, 2008).

###### **b. Plasma Serum**

Plasma merupakan komponen darah yang berupa cairan. Mengandung 90% air dan 10% sisanya merupakan bahan terlarut, seperti glukosa, hormon, ion-ion, asam amino, dan berbagai macam protein. Pada dasarnya serum sama dengan plasma, tetapi tidak

mengandung faktor pembekuan darah atau fibrinogen (Kiswari, 2014).

c. Eritrosit Manusia

Eritrosit merupakan sel darah yang tidak berinti, bulat, agak oval tampak seperti cakram bikonkaf dengan ukuran 7-8  $\mu\text{m}$ . Komposisi eritrosit antara lain membran eritrosit, hemoglobin, lemak, protein, kolesterol, enzim, zat besi, urea, asam amino, kreatinin, kalium, bilirubin, natrium, magnesium, vitamin A, vitamin K, amilase dan fosfat (Handayani dan Sulistyono, 2008).

2. Media Pertumbuhan Bakteri

Berdasarkan tujuannya media pertumbuhan bakteri dibagi menjadi tiga jenis media yaitu :

a. Media Selektif

Media selektif ini digunakan untuk mengisolasi kelompok-kelompok bakteri spesifik. Media-media ini mengandung zat-zat kimia yang menghambat pertumbuhan satu jenis bakteri dan memungkinkan pertumbuhan bakteri lainnya sehingga memudahkan isolasi bakteri (Cappuccino dan Sherman, 2014). Contoh jenis media selektif sebagai berikut :

1) Agar Feniletil Alkohol

Media ini digunakan untuk isolasi sebagian besar organisme Gram-positif. Pertumbuhan organisme Gram-negatif

sebagian dihambat oleh feniletil alkohol (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### 2) Agar Kristal Violet

Media ini bersifat selektif untuk mikroorganisme gram negatif. Sebagian besar organisme Gram-positif sebagian dihambat oleh pewarna kristal violet (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### 3) Agar NaCl 7,5%

Media ini digunakan untuk menghambat sebagian organisme, kecuali organisme halofilik dan digunakan sebagai pendeteksian bakteri *Staphylococcus* sp (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### b. Media Selektif atau Diferensial

Media ini digunakan untuk membedakan kelompok-kelompok organisme yang hampir sama secara morfologis dan biokimia. Media-media tersebut mengandung zat-zat kimia yang telah diinokulasi dan diinkubasi, menghasilkan suatu pertumbuhan karakteristik pada tampilan pertumbuhan bakteri dan/atau media disekeliling koloni yang memungkinkan diferensiasi (Cappuccino dan Sherman, 2014). Contoh jenis media selektif atau diferensial terdiri dari :

1) Agar Garam Manitol

Media ini mengandung NaCl 7,5% yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri selain stafilocokus dan karbohidrat mannitol yang dapat difermentasikan oleh beberapa bakteri stafilocokus dan fenol merah (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Agar MacConkey

Media ini mengandung karbohidrat laktosa, garam-garam empedu dan kristal violet yang dapat menghambat pertumbuhan organisme Gram-positif dan membiarkan organisme Gram-negatif tumbuh. Kandungan dalam media ini memungkinkan diferensiasi bakteri enterik untuk memfermentasi laktosa (Cappuccino dan Sherman, 2014).

3) Agar Eosin-Metilen Blue (*Levine*)

Media ini digunakan untuk menghambat organisme Gram-positif secara parsial yang menyebabkan pertumbuhan bakteri Gram-negatif melimpah. Laktosa, pewarna eosin dan metilen blue sebagai fermentasi serta identifikasi bakteri *Escherichia coli* (Cappuccino dan Sherman, 2014).

c. Media yang Diperkaya

Media ini digunakan sebagai kultivasi organisme-organisme selektif. Kandungan dalam media ini telah ditambahkan berbagai bahan-bahan bernutrisi tinggi seperti darah, serum atau ekstrak khamir (Cappuccino dan Sherman, 2014). Contoh jenis media yang diperkaya sebagai berikut :

1) Agar Darah

Media yang ditambahkan dengan darah ini merupakan bahan pengayaan untuk kultivasi organisme-organisme selektif seperti *Streptococcus* sp. Beberapa mikroorganisme memiliki sifat hemolitik pada darah (Cappuccino dan Sherman, 2014). Berdasarkan aktivitas hemolisisnya dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

a) Hemolisis Gama

Hemolisis gama tidak terjadi lisis pada sel darah merah, sehingga tidak ada perubahan secara signifikan disekeliling koloni bakteri (Cappuccino dan Sherman, 2014).

b) Hemolisis Alfa

Hemolisis alfa terjadi lisis pada sel darah merah tetapi tidak sempurna. Hemoglobin tereduksi menjadi metemoglobin dan membentuk halo berwarna kehijauan

disekeliling pertumbuhan koloni bakteri (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### c) Hemolisis Beta

Hemolisis beta terjadi lisis pada sel darah merah yang sempurna dan penggunaan hemoglobin oleh organisme yang membentuk zona jernih disekeliling pertumbuhan koloni bakteri. Pembentukan hemolisis ini dihasilkan oleh dua jenis hemolisin beta, yaitu streptolysin O dan streptolysin S (Cappuccino dan Sherman, 2014).

### 3. Media Agar Darah Domba

Suatu larutan yang mengandung nutrien kompleks yang digunakan untuk mengisolasi bakteri *Streptococcus* sp (Cappuccino dan Sherman, 2014). Contoh jenis media agar darah sebagai berikut :

#### a. Agar Miring

Media cair yang sudah ditambahkan darah domba ditempatkan dalam tabung uji, yang kemudian dibiarkan dingin dan padat dalam keadaan posisi tabung miring (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### b. Agar Lempeng

Media agar cair dituang ke dalam cawan petri dan ditambahkan darah domba akan menghasilkan agar lempeng. Media ini memberikan luas permukaan yang luas untuk mengisolasi biakan bakteri (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### 4. Bakteri *Streptococcus mutans*

##### a. Klasifikasi

Klasifikasi dari bakteri *Streptococcus mutans* menurut Zelnicek (2014) adalah :

Kingdom : Bacteria

Pylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Order : Lactobacillales

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus mutans*

##### b. Morfologi Bakteri *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri dengan bentuk bulat yang membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya. Bakteri *Streptococcus mutans* termasuk bakteri anaerob fakultatif gram positif. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri non-motil, berbentuk kokus dan tidak berspora (Andries dkk, 2014). Bakteri ini termasuk dalam kelompok *Streptococcus* alpha hemolitikus yaitu kelompok dari *Streptococcus viridians* (Brahm, 2013).

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang memiliki komposisi kapsul yang terdiri dari polisakarida dengan sub unit struktural glukosa (dextran). *Streptococcus mutans* dapat tumbuh

dengan optimal pada suhu antara 18-40<sup>0</sup> C dan biasa disebut juga dengan mesofilik (Thodar, 2012). Karakteristik bakteri *Streptococcus mutans* memiliki ukuran koloni 0,5-1 mm, berwarna putih hingga abu-abu *translucent*, permukaan koloni kasar dengan konfigurasi radial, biasanya membentuk  $\alpha$  heolisa atau non hemolisa (Rahardjo dan Indah, 2004).

Karakteristik bakteri *Streptococcus mutans* dapat diketahui melalui beberapa uji. Uji *katalase*, *oksidase* dan *urease* pada bakteri *Streptococcus mutans* akan menunjukkan hasil negatif. Sedangkan pada uji *Voges Proskauer* (VP) akan menunjukkan hasil positif (Aryal, 2019).



Hasil uji biokimia pada bakteri *Streptococcus mutans* ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Uji Biokimia Bakteri *Streptococcus mutans*

Uji Biokimia	Hasil
<i>Adonitol</i>	Negatif (-)
<i>Arabinose</i>	Negatif (-)
<i>Arbutin</i>	Positif (+)
<i>Cellobiose</i>	Positif (+)
<i>Dulcitol</i>	Negatif (-)
<i>Erythritol</i>	Negatif (-)
<i>Galactose</i>	Positif (+)
<i>Glucose</i>	Positif (+)
<i>Glycerol</i>	Negatif (-)
<i>Glycogen</i>	Negatif (-)
<i>Hippurate</i>	Negatif (-)
<i>Inositol</i>	Negatif (-)
<i>Inulin</i>	Positif (+)
<i>Lactose</i>	Positif (+)
<i>Maltose</i>	Positif (+)
<i>Mannitol</i>	Positif (+)
<i>Mannose</i>	Positif (+)
<i>Melibiose</i>	Tidak tetap
<i>Raffinose</i>	Positif (+)
<i>Rhamnose</i>	Negatif (-)
<i>Ribose</i>	Negatif (-)
<i>Salicin</i>	Positif (+)
<i>Sorbitol</i>	Positif (+)
<i>Starch</i>	Negatif (-)
<i>Sucrose</i>	Positif (+)
<i>Trehalose</i>	Positif (+)
<i>Xylose</i>	Negatif (-)

Sumber : Aryal, 2019.

Hasil uji reaksi enzimatik pada bakteri *Streptococcus mutans* ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Uji Reaksi Enzimatik Bakteri *Streptococcus mutans*

Uji Reaksi Enzimatik	Hasil
<i>Alkaline Phosphatase</i>	Negatif (-)
<i>Arginine Dehydrolase</i>	Negatif (-)
<i>Esculin Hydrolysis</i>	Positif (+)
<i>Hyalurodinase</i>	Negatif (-)
<i>Neuraminidase</i>	Negatif (-)

Sumber : Aryal, 2019.

### c. Patogenitas

Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit karies gigi. Karies gigi terjadi dimana adanya kerusakan pada struktur jaringan pembentuk gigi yang disebabkan oleh aktivitas bakteri. Kondisi gigi setelah memakan sesuatu yang mengandung sukrosa. Pembentukan plak gigi terjadi karena adanya glikoprotein yang melekat pada gigi dan bakteri *Streptococcus mutans*. Banyaknya bakteri yang ada di dalam mulut, terutama yang menempel pada gigi, hanya bakteri *Streptococcus mutans* yang dapat menyebabkan karies gigi (Nugraha, 2008).

### 5. Pembiakan dan Pertumbuhan

Pertumbuhan populasi bakteri memerlukan inokulasi sel-sel viabel ke dalam media dan inkubasi biakan pada suhu, pH maupun gas secara optimum. Pada kondisi tersebut, sel-sel akan bereproduksi dengan cepat dan pertumbuhan bakteri dapat digambarkan dengan

kurva pertumbuhan bakteri. Kurva tersebut dapat membantu dalam perhitungan jumlah sel dan kecepatan pertumbuhan bakteri pada kondisi yang terstandarisasi yang dinyatakan sebagai waktu pembentukan yang dibutuhkan oleh bakteri (Cappuccino dan Sherman, 2014).

a. Fase Lag

Pada fase ini, sel-sel menyesuaikan diri terhadap lingkungan barunya. Metabolisme sel dipercepat sehingga menyebabkan biosintesis makromolekul seluler yang cepat, terutama enzim-enzim yang disiapkan untuk fase siklus berikutnya. Meskipun sel-sel ini meningkat ukurannya, tidak terjadi pembelahan sel sehingga tidak terjadi peningkatan jumlah sel (Cappuccino dan Sherman, 2014).

b. Fase Logaritmik (log)

Pada kondisi nutrisi dan fisik yang optimum, sel-sel yang sehat secara fisiologis bereproduksi dengan cepat dan seragam dengan cara pembelahan biner. Peningkatan eksponensial yang cepat pada populasi, yang menggandakan jumlah secara teratur hingga jumlah sel yang maksimum tercapai. Waktu yang dibutuhkan bagi populasi untuk menggandakan jumlahnya disebut dengan waktu generasi. Panjang fase log bervariasi, bergantung pada organisme dan komposisi media. Rata-rata berlangsung 6 sampai 12 jam (Cappuccino dan Sherman, 2014).

c. Fase Stasioner

Selama tahap ini, jumlah sel-sel yang mengalami pembelahan sama dengan jumlah sel yang mati. Oleh sebab itu tidak terjadi peningkatan jumlah sel lebih lanjut dan populasi bertahan pada tingkat maksimum selama periode waktu tertentu. Faktor utama yang menimbulkan fase ini adalah berkurangnya beberapa metabolit yang penting dan akumulasi produk akhir asam atau basa yang bersifat toksik di dalam media (Cappuccino dan Sherman, 2014).

d. Fase Penurunan atau Kematian

Karena terjadi penurunan nutrisi yang berkelanjutan dan bertambahnya buangan metabolik, mikroorganisme mati dengan laju yang cepat dan seragam. Penurunan populasi hampir menyerupai peningkatannya pada fase log. Secara teoritis, seluruh populasi harus mati selama interval waktu yang sama dengan interval waktu pada fase log. Akan tetapi, hal ini tidak terjadi karena adanya sejumlah kecil organisme yang sangat resisten untuk jangka waktu yang tidak ditentukan (Cappuccino dan Sherman, 2014).

## 6. Kebutuhan Nutrisi

### a. Karbon

Karbon merupakan kebutuhan penting dan atom pusat yang umum untuk semua struktur dan fungsi seluler (Cappuccino dan Sherman, 2014). Contoh jenis mikroba yang bergantung dengan adanya karbon yaitu :

#### 1) Autotrof

Organisme-organime yang hanya dapat dikultivasi dalam media yang mengandung senyawa anorganik. Organisme menggunakan karbon anorganik dalam bentuk karbon dioksida (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### 2) Heterotrof

Organisme-organime yang tidak dapat dikultivasi dalam media yang hanya mengandung senyawa anorganik. Media yang mengandung nutrient organik terutama glukosa yang bisa dikultivasi oleh organisme tersebut (Cappuccino dan Sherman, 2014).

### b. Nitrogen

Nitrogen merupakan atom yang penting dalam banyak makromolekul seluler, berupa protein dan asam nukleat. Protein tersebut membentuk bahan sel sebagai molekul fungsional, enzim-enzim, yang berperan atas aktivitas metabolis sel (Cappuccino dan Sherman, 2014).

c. Unsur Non-Logam

1) Sulfur

Sulfur merupakan bagian dari beberapa asam amino berupa komponen protein. Sumber-sumbernya meliputi senyawa organik, senyawa anorganik dan unsur sulfur dasar (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Fosfor

Fosfor berperan sebagai pembentukan asam-asam nukleat DNA dan RNA dan untuk sintesis senyawa organik berenergi-tinggi adenosin trifosfat (ATP). Fosfor tersedia dalam bentuk garam fosfat yang diperlukan oleh sel mikroba (Cappuccino dan Sherman, 2014).

d. Unsur Logam

Unsur logam merupakan ion-ion logam yang digunakan untuk kinerja proses aktivasi seluler secara efisien. Unsur logam berupa  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{-2,-3}$ . Ion-ion tersebut merupakan mikronutrien, sehingga yang dibutuhkan hanya dalam konsentrasi yang sangat sedikit (Cappuccino dan Sherman, 2014).

e. Vitamin

Vitamin merupakan sumber koenzim yang dibutuhkan sebagai pembentukan sistem enzimaktif. Vitamin berperan terhadap pertumbuhan seluler dan penting untuk aktivitas sel. Vitamin yang dibutuhkan organisme hanya dalam jumlah sedikit (Cappuccino dan Sherman, 2014).

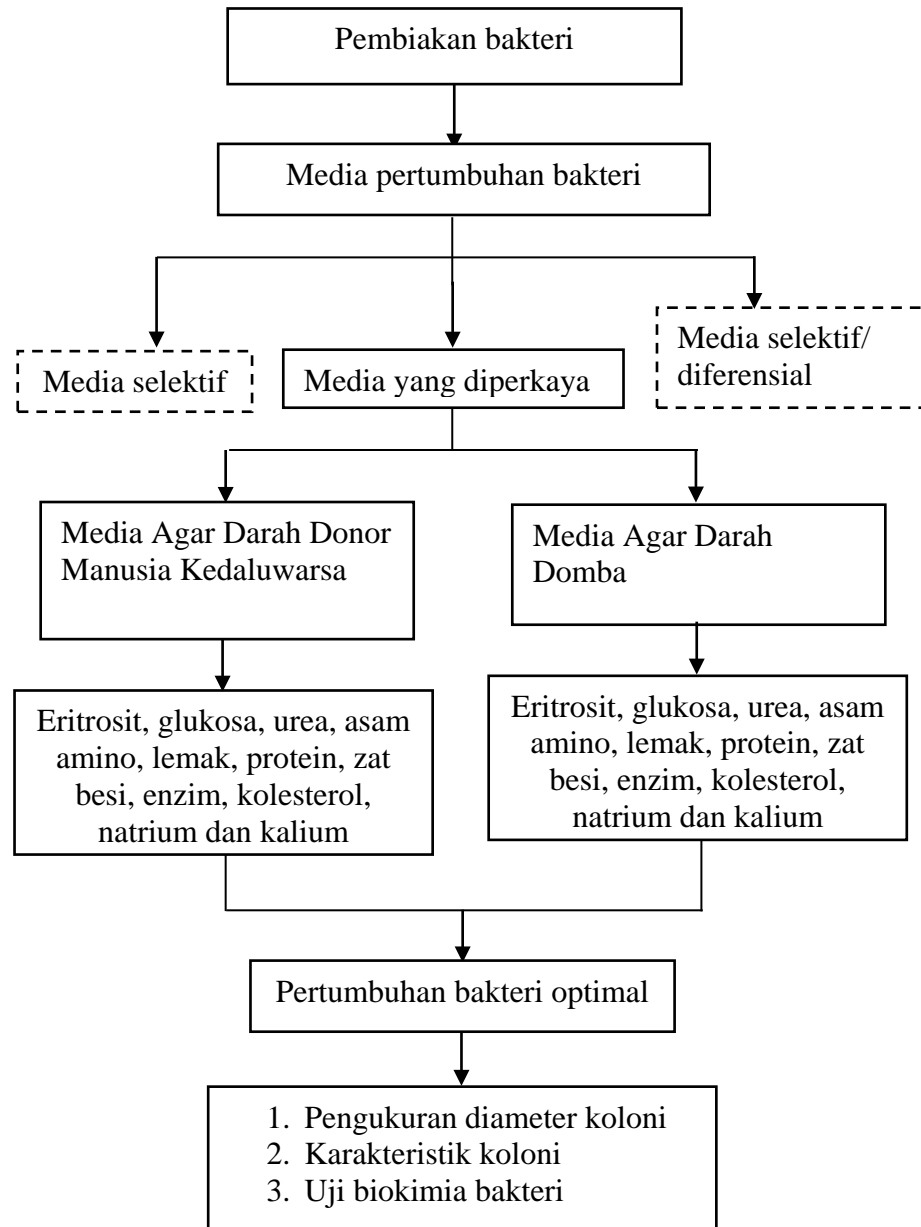
f. Air

Air suling di dalam media sangat dibutuhkan oleh keseluruhan sel. Nutrien-nutrien berbobot molekul rendah dapat melintasi membrane sel dengan adanya air tersebut (Cappuccino dan Sherman, 2014).

g. Energi

Transpor aktif, biosintesis dan biodegradasi makromolekul-makromolekul merupakan aktivitas metabolik kehidupan seluler. Aktivitas metabolik dapat berlangsung jika ketersediaan energi yang konstan di dalam sel (Cappuccino dan Sherman, 2014).

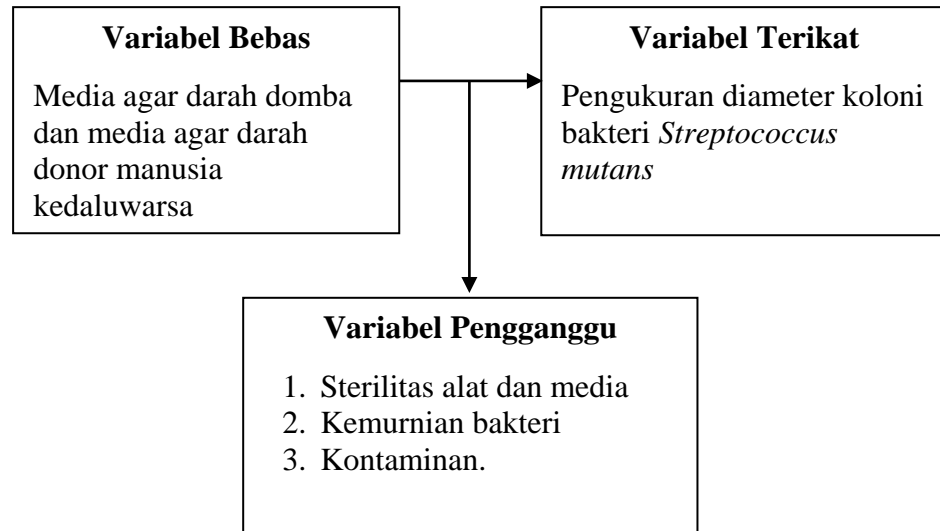
## B. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka teori



### C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

### D. Hipotesis

1. Tidak ada perbedaan diameter koloni bakteri *Streptococcus mutans* pada media agar darah donor manusia kadaluwarsa dan media agar darah domba.
2. Tidak ada perbedaan karakteristik koloni bakteri *Streptococcus mutans* pada media agar darah donor manusia kadaluwarsa dan media agar darah domba.