

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Media Pertumbuhan

a. Definisi

Mikroorganisme bergantung pada nutrisi yang tersedia dan lingkungan yang mendukung untuk tumbuh dan bertahan hidup. Zat makanan (*nutrient*) yang digunakan sebagai kultur mikroorganisme disebut media (Harley dan Prescott, 2002).

b. Syarat Media Pertumbuhan

Suatu media pertumbuhan harus memiliki zat – zat nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme. Berikut merupakan zat-zat yang dibutuhkan oleh mikroorganisme sebagai syarat kandungan media pertumbuhan:

1) Energi

Menurut Cappuccino (2013) transport aktif, biosintesis, dan biodegradasi makromolekul merupakan aktivitas-aktivitas metabolik kehidupan seluler . Aktivitas-aktivitas tersebut hanya dapat berlangsung jika terdapat ketersediaan energy yang konstan di dalam sel. Dua tipe bioenergetik mikroorganisme yaitu :

- a) Fototrof : mikroorganisme tipe ini menggunakan energi radiasi sebagai sumber energinya
- b) Kemotrof : mikroorganisme ini bergantung pada oksidasi senyawa kimia sebagai sumber energinya. Beberapa mikroba menggunakan molekul-molekul organik, seperti glukosa; yang lainnya menggunakan senyawa-senyawa anorganik seperti H_2S atau $NaNO_2$.

2) Karbon

Karbon merupakan kebutuhan yang paling penting dan atom pusat yang umum untuk semua struktur dan fungsi seluler (Cappuccino, 2013). Karbon dalam bentuk anorganik maupun organik dibutuhkan sebagai sumber energi metabolisme pada kelompok organisme selain itu karbon juga dibutuhkan pada sejumlah reaksi biosintesis (Brooks, dkk., 2013). Mikroorganisme menggunakan karbon anorganik dalam bentuk karbondioksida atau menggunakan karbon organik pada nutrisi yang disediakan pada media terutama glukosa (Cappuccino, 2013).

3) Nitrogen

Nitrogen merupakan komponen utama protein dan asam nukleat. Protein berperan sebagai molekul-molekul struktural yang membentuk sesuatu yang disebut bahan sel dan sebagai molekul fungsional, enzim-enzim yang bertanggung jawab atas

aktivitas metabolisme sel. Asam nukleat (DNA dan RNA) berperan sebagai sintesis protein dalam sel (Cappuccino, 2013). Nitrogen dapat disuplai dalam bentuk yang berbeda dan mikroorganisme beragam kemampuannya untuk mengasimilasi nitrogen. Banyak mikroorganisme memiliki kemampuan untuk mereduksi nitrat (NO_3^-) menjadi nitrit (NO_2^-). Beberapa organisme memiliki kapasitas enzimatis mereduksi nitrit lebih lanjut menjadi ammonia (NH_3) atau gas nitrogen (N_2) yang dikeluarkan ke atmosfer. Selain menggunakan nitrogen atmosferik, kebanyakan mikroorganisme menggunakan garam ammonium (NH_4^+) yang merupakan senyawa anorganik atau menggunakan amina (R-NH_2) dan asam amino ($\text{RCHNH}_2\text{COOH}$) yang merupakan senyawa organik sebagai sumber karbon (Brooks, dkk., 2013)

4) Unsur non-logam

Ion-ion non-logam utama yang digunakan untuk nutrisi seluler adalah sulfur dan fosfor. Sulfur merupakan bagian integral beberapa asam amino sehingga merupakan komponen protein; sumbernya meliputi senyawa organik seperti asam amino yang mengandung sulfur atau senyawa anorganik seperti sulfat dan unsur sulfur dasar. Fosfor diperlukan untuk pembentukan asam-asam nukleat DNA dan RNA dan juga untuk sintesis senyawa organik berenergi-tinggi adenosine trifosfat

(ATP), fosfor tersedia dalam bentuk garam-garam fosfat untuk digunakan oleh semua sel mikroba (Cappuccino, 2013).

5) Unsur logam

Ca^{2+} , Zn^{2+} , Na^+ , K^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} dan $\text{Fe}^{2+,3+}$ merupakan beberapa ion logam mikronutrien yang dibutuhkan untuk kelangsungan kinerja berbagai proses aktivitas seluler secara efisien. Beberapa aktivitas seluler antara lain adalah osmoregulasi, pengaturan aktivitas enzim, dan transport electron selama oksidasi. Garam-garam anorganik menyediakan bahan-bahan unsure logam tersebut (Cappuccino, 2013).

6) Vitamin

Vitamin merupakan mikronutrien organik yang berperan terhadap pertumbuhan seluler dan penting untuk aktivitas sel. Vitamin juga merupakan sumber kenzim yang dibutuhkan untuk pembentukan sistem enzim aktif (Cappuccino, 2013).

7) Air

Seluruh sel membutuhkan air suling di dalam media sehingga nutrient-nutrien berbobot molekul rendah dapat melintasi membrane sel (Cappuccino, 2013).

c. Komposisi Media

Menurut Atlas (2010) media untuk kultur mikroorganismenya mengandung zat-zat yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan mikroorganismenya. Media yang digunakan untuk

kultur bakteri umumnya mengandung pepton, ekstrak daging atau ekstrak tanaman dan agar.

1) Pepton

Pepton adalah protein terhidrolisis yang terbentuk dari pencernaan asam atau enzimatis. Casein sering digunakan sebagai substrat protein untuk membentuk pepton namun zat lain seperti kacang kedelai juga umum digunakan

2) Ekstraks Daging atau Tanaman

Infusi daging dan tanaman merupakan cairan ekstrak yang umum digunakan sebagai sumber nutrisi untuk kultur mikroorganisme. Infusi tersebut mengandung asam amino dan peptida dengan berat molekul rendah, karbohidrat, vitamin, mineral, dan unsur logam. Ekstrak dari jaringan hewan mengandung komponen protein yang larut dalam air dengan konsentrasi relatif tinggi dan glikogen. Ekstrak dari jaringan tumbuhan mengandung karbohidrat dengan konsentrasi yang relative tinggi

2. Macam-macam Media

a. Media berdasarkan bentuk fisik

Menurut Harley dan Prescott (2002) berdasarkan bentuk fisiknya media dibagi menjadi tiga, yaitu :

1) *Liquid* atau cair

Media berbentuk cair digunakan untuk membiakkan mikroorganisme dalam jumlah yang besar untuk mempelajari fermentasi mikroorganisme dan berbagai macam uji biokimia. Contoh media cair seperti *nutrient broth*, *tryptic soy broth* atau *brain-heart infusion broth*.

2) Semisolid

Media semisolid dapat digunakan untuk mempelajari fermentasi, menentukan motilitas atau pergerakan bakteri dan mendukung pertumbuhan anaerobik.

3) Solid atau Padat

Media solid atau padat biasa digunakan untuk pembiakan mikroorganisme di permukaan untuk mengamati tampilan dari koloni, untuk isolasi kultur, penyimpanan kultur dan observasi reaksi biokimia secara spesifik.

b. Media berdasarkan bahan yang digunakan

Menurut Cappuccino (2013), media untuk kultur bakteri secara rutin berdasarkan bahannya dibagi menjadi dua, yaitu :

1) Sintetis

Media sintetis terdiri dari sejumlah senyawa-senyawa organik tertentu dan/atau anorganik spesifik yang murni secara kimia. Penggunaan media ini membutuhkan pengetahuan terhadap kebutuhan nutrisi spesifik organisme. Contoh dari media

sintetis adalah kaldu sintetis anorganik dan kaldu garam-garam glukosa.

2) Media Non Sintetis atau Kompleks

Media kompleks tidak memiliki komposisi kimia yang pasti. Media ini terdiri dari ekstrak-ekstrak jaringan tanaman dan hewan dan bervariasi dalam komposisi kimianya. Sebagian besar mengandung asam amino, gula, vitamin, dan mineral yang melimpah, akan tetapi jumlah-jumlah unsure tersebut tidak diketahui. Unsur-unsur tersebut mampu mendukung pertumbuhan sebagian besar mikroba heterotrof. Contoh media non sintetis atau media kompleks ini adalah *nutrient agar*, *nutrient broth*, kaldu ekstrak khamir.

3. Media Nutrient Agar (NA)

Media *Nutrient Agar* (NA) merupakan media memiliki sifat fisik padat yang merupakan media kompleks atau non sintetis, dimana media ini merupakan media umum atau universal yang biasanya digunakan untuk kultivasi bakteri secara rutin, isolasi kultur murni atau sebagai media penyimpan kultur (Atlas, 2010).

Media *Nutrient Agar* (NA) dalam satu liter akuades memiliki komposisi yaitu 5 gram pepton yang merupakan protein semicerna yang digunakan sebagai sumber utama nitrogen pada media pertumbuhan bakteri; 3 gram ekstrak daging yang merupakan derivat daging sapi sebagai sumber karbon organik, nitrogen organik, vitamin

organic, dan garam organik (Cappuccino, 2013); dan agar yang merupakan ekstrak polisakarida dari alga laut sebagai agen pemat, dengan konsentrasi 15 gram untuk media solid dan 7,5 – 10 gram untuk media semisolid (Atlas, 2010).

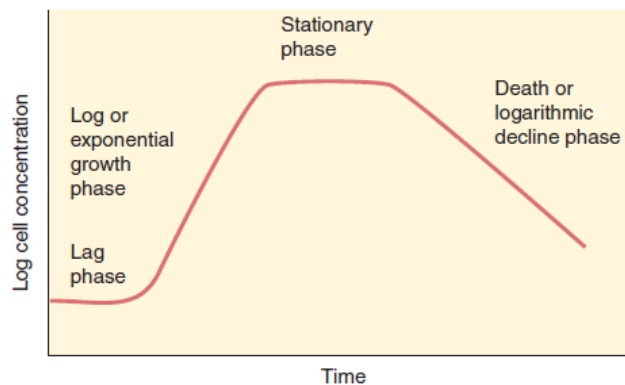
4. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri

a. Definisi

Pertumbuhan adalah peningkatan secara teratur jumlah semua komponen suatu organisme. Peningkatan ukuran yang terjadi ketika sebuah sel mengambil air atau menyimpan lipida atau polisakarida bukanlah pertumbuhan yang sebenarnya. Multiplikasi sel merupakan akibat dari pembelahan sel dari organisme uniselular, pertumbuhan mengarah kepada peningkatan jumlah dari satu bakteri menjadi sebuah populasi, yang disebut kultur (Brooks, dkk., 2013).

b. Kurva Pertumbuhan

Suatu media cair apabila diinokulasikan dengan sel mikroba yang diambil dari sebuah kultur yang sebelumnya sudah tumbuh sampai jenuh dan jumlah dari sel viabel per milliliter ditetapkan secara periodik dan diplot, maka akan didapatkan kurva pertumbuhan seperti pada Gambar. 1.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan
 Sumber : (Brooks, dkk., 2013)

Fase pertumbuhan bakteri menurut Brooks, dkk. (2013) antara lain :

1) Fase *Lag*

Fase *lag* menunjukkan periode waktu dimana sel kehilangan metabolisme dan enzim sebagai akibat dari kondisi yang kurang menguntungkan di akhir waktu kultur sebelumnya, sehingga bakteri beradaptasi dengan lingkungan barunya.

2) Fase Eksponensial

Pada fase ini, sel berada dalam keadaan yang tetap. Material sel baru disintesis dengan kecepatan yang konstan, tetapi material baru ini mengkatalisis dirinya sendiri sehingga terjadi peningkatan massa secara eksponensial. Hal ini terus terjadi sampai salah satu nutrisi atau lebih pada media menjadi jenuh atau mengakumulasi produk metabolisme toksik dan menghambat pertumbuhan.

3) Fase Stasioner

Kekurangan nutrisi atau akumulasi dari produk toksik pada fase sebelumnya menyebabkan pertumbuhan berhenti secara keseluruhan. Pada sebagian besar kasus pergantian sel terjadi pada fase stasioner, dimana kehilangan sel secara perlahan melalui kematian sel diimbangi dengan pembentukan sel baru melalui pertumbuhan dan pembelahan. Pada saat hal ini terjadi jumlah sel total perlahan meningkat meskipun jumlah sel viable tetap konstan.

4) Fase Kematian

Setelah melewati fase stasioner yang bervariasi pada setiap organisme dan kondisi kultur, tingkat kematian meningkat sampai mencapai tingkat yang tetap. Pada sebagian besar kasus, tingkat kematian sel secara tetap lebih lambat dibandingkan pertumbuhan eksponensial. Seringkali setelah semua sel mati, tingkat kematian sel menurun secara drastis, sehingga sebagian kecil sel yang bertahan hidup tetap ada untuk beberapa bulan atau tahun.

Sebuah kejadian dimana sel disebut viable tetapi tidak dapat dikultivasi diperkirakan merupakan hasil dari respon genetik yang terpancing pada fase stasioner. Seperti beberapa bakteri yang membentuk spora sebagai bentuk mekanisme pertahanan, sebagian dapat hidup dalam keadaan dorman tanpa perubahan

morfologi, ketika berada pada kondisi yang tepat (contoh : menempel pada hewan) maka sel viabel yang tidak dapat dikultivasi ini akan melanjutkan perumbuhannya.

c. Faktor Fisik yang Memengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Menurut Cappuccino (2013) terdapat tiga faktor fisik paling penting yang memengaruhi pertumbuhan dan kehidupan sel – sel mikroorganisme, antara lain :

1) Suhu

Suhu memengaruhi laju reaksi kimia melalui kerjanya pada enzim-enzim seluler. Bakteri, sebagai suatu kelompok organisme, terdapat dalam kisaran suhu yang luas. Akan tetapi, masing-masing spesies dapat muncul hanya dalam spektrum suhu yang lebih sempit. Suhu yang rendah memperlambat atau menghambat metabolisme sel dan akibatnya pertumbuhan sel juga diperlambat atau dihambat. Suhu yang tinggi mengakibatkan koagulasi sehingga mendenaturasi enzim yang termolabil secara tak terbalikkan.

2) pH lingkungan ekstraseluler

pH sangat mempengaruhi aktivitas enzimatik sel-sel. pH optimum untuk metabolisme sel biasanya berada dalam kisaran netral, yaitu pH 7. Baik peningkatan maupun penurunan pH akan memperlambat laju pertumbuhan dan akhirnya kehidupan sel.

3) Gas

Kebutuhan gas pada sebagian besar sel adalah oksigen atmosferik, yang diperlukan untuk proses bioksidatif respirasi. Oksigen atmosferik memegang peranan penting dalam pembentukan ATP dan ketersediaan energi dalam bentuk yang dapat digunakan untuk aktivitas-aktivitas sel. Akan tetapi, jenis-jenis sel tertentu tidak memiliki sistem enzim untuk respirasi dengan menggunakan oksigen sehingga harus menggunakan bentuk respirasi anaerob atau fermentasi

5. Kacang Kedelai

a. Klasifikasi

Klasifikasi kacang kedelai (*Glycine max (L.) Merrill*) menurut Adisarwanto dalam Stefia (2017) adalah:

Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Sub Kelas : *Rosidae*
Ordo : *Fabales*
Famili : *Fabaceae*
Genus : *Glycine*
Spesies : *Glycine max (L.) Merrill*

b. Kandungan Kacang Kedelai

Kedelai merupakan komoditas pangan fungsional dengan kandungan protein nabati tinggi. Menurut Liu (2004) dalam Krisnawati (2017) berdasarkan bobot kering, kedelai mengandung sekitar 40% protein, 20% minyak, 35% karbohidrat larut (sukrosa, stachyose, rafinosa, dll) dan karbohidrat tidak larut (serat makanan) dan 5% abu. Selain itu kedelai juga mengandung

vitamin (vitamin A, E, K, dan beberapa jenis vitamin B) dan mineral (K, Fe, Zn, dan P) (Krisnawati, 2017).

Menurut Slavin (1991) dalam Stefia (2017) protein nabati mempunyai mutu lebih rendah dibandingkan dengan protein hewani karena mempunyai kandungan asam amino tertentu yang lebih rendah. Kedelai mempunyai asam amino metionin dan sistein yang rendah, tetapi dibandingkan dengan kacang – kacangan yang lain asam amino tersebut masih lebih tinggi.

Berdasarkan hasil penelitian Gozalli (2015) tentang karakteristik tepung kedelai didapatkan hasil uji proksimat tepung kacang kedelai dengan varietas baluran tanpa perebusan sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Uji Proksimat Tepung Kedelai Varietas Baluran Tanpa Perebusan

Jenis Uji	Kadar (%)
Kadar protein	39,33
Kadar lemak	18,90
Kadar air	6,23
Kadar abu	5,51
Kadar Karbohidrat	30,3

Sumber :Gozalli, 2015

6. Umbi Talas
a. Klasifikasi

Klasifikasi umbi talas (*Colocasia esculenta (L.) Schott*) menurut *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) atau Sistem Informasi Taksonomi Terpadu adalah sebagai berikut :

Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Subdivisi	: <i>Spermatophytina</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Superordo	: <i>Liliana</i>
Ordo	: <i>Alismatales</i>
Famili	: <i>Araceae</i>
Genus	: <i>Colocasia Schott</i>
Spesies	: <i>Colocasia esculenta (L.) Schott</i>

b. Kandungan Umbi Talas

Umbi talas mengandung nilai gizi yang cukup baik. Zat gizi makro dan mikro yang terkandung di dalam umbi talas meliputi protein, karbohidrat, lemak serat kasar, fosfor, kalsium, besi, vitamin A, tiamin, riboflavin, niasin dan vitamin C. komposisi zat gizi dan kimia tersebut bervariasi tergantung pada beberapa faktor, seperti jenis varietas, usia, dan tingkat kematangan talas. Komponen karbohidrat talas terbesar adalah pati yang mencapai 77,9%, pati umbi talas terdiri atas amilosa 17 – 28% dan amilopektin 72 – 83%, umbi talas juga mengandung oligosakarida (Judiono dan Widiastuti, 2017). Nilai gizi umbi talas dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil Uji Proksimat Tepung Talas

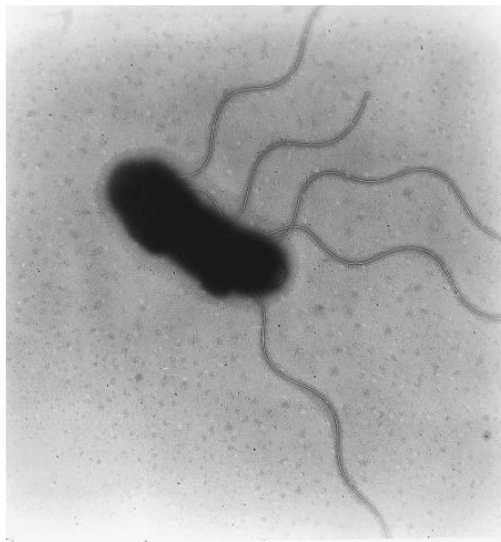
Jenis Uji	Kadar (%)
Kadar protein	3,91 – 5,45
Kadar lemak	0,32 – 0,38
Kadar air	5,66 – 8,34
Kadar abu	03,11 – 3,84
Kadar karbohidrat	83,03 – 86,94

Sumber :Hawa, dkk., 2020

7. *Escherichia coli* (*E. coli*)

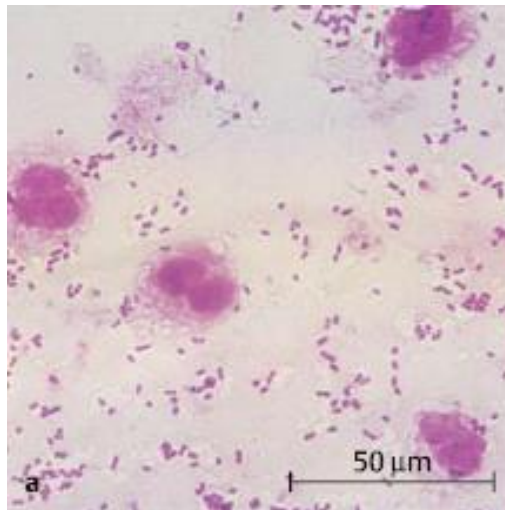
E. coli merupakan bakteri anaerob fakultatif Gram-negatif yang hidup secara alami di usus manusia dan hewan. *E. coli* adalah bakteri yang digunakan sebagai indikator kontaminasi fekal pada air minum, air mandi, dan makanan. *E. coli* juga merupakan bakteri patogen yang paling sering menyebabkan infeksi bakteri pada manusia (Kayser, dkk., 2005).

E. coli berbentuk batang dengan ujung seperti kapsul dan berukuran sangat kecil, panjangnya sekitar 2,5 μm dan berdiameter sekitar 0,8 μm . *E. coli* memiliki flagella di seluruh bagian selnya yang berfungsi untuk berenang (Berg, 2004). Morfologi *E. coli* yang diamati menggunakan mikrograf electron ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi *E. coli*
Sumber : Berg, 2004

Sedangkan Gambar 3. merupakan gambar pewarnaan Gram *E. coli* yang di dapat dari sediaan sedimen urine pada penderita sistitis



Gambar 3. Pewarnaan Gram Bakteri *E. coli*
Sumber : Kayser, 2005.

E. coli yang keluar dari habitat alaminya akan menjadi berbahaya. Sebagian besar *E.coli* tidak berbahaya namun sebagian lainnya dapat menyebabkan infeksi saluran kencing atau diare. *E. coli*O157:H7 merupakan jenis *E.coli* yang dapat menyebabkan komplikasi syaraf dan ginjal yang parah atau fatal karena jenis ini mengandung gen yang memproduksi toksin seperti pada Shigella (Berg, 2004).

E.coli merupakan organisme yang sangat berguna untuk mempelajari fisiologi bakteri karena bakteri ini mudah didapat, umumnya tidak berbahaya, dan mudah ditumbuhkan di media pertumbuhan (Berg, 2004).

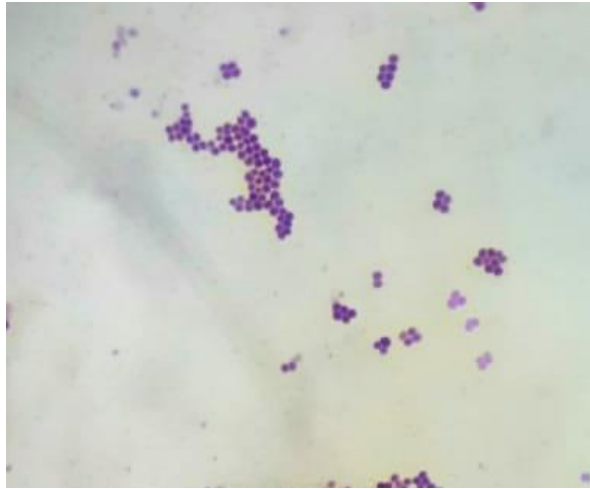
Klasifikasi *Escherichia coli* menurut *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) atau Sistem Informasi Taksonomi Terpadu adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Subkingdom	: <i>Negibacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

8. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

Staphylococcus aureus atau *S. aureus* merupakan bakteri anaerob fakultatif Gram-positif. *S. aureus* termasuk bagian dari organisme yang umumnya menyebabkan infeksi bakteri pada manusia. *S. aureus* hidup di kulit dan membran mukosa. *S. aureus* merupakan patogen yang umumnya menjadi penyebab infeksi nosokomial, bakteri ini dapat disebarkan melalui tangan atau debu yang ada di udara (Kayser, dkk., 2005).

S. aureus berbentuk bulat, koloni mikroskopik cenderung bergerombol menyerupai buah anggur. *S. aureus* menghasilkan pigmen berwarna kuning emas. Bakteri ini memiliki diameter sekitar 0,8 – 1,0 μm , tidak bergerak dan tidak berspora (Radji, 2011). Morfologi *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 4. yang didapat dari pewarnaan Gram pada sediaan murni *S. aureus*.



Gambar 4. Morfologi *S. aureus*
Sumber : Dokumen pribadi, 2020.

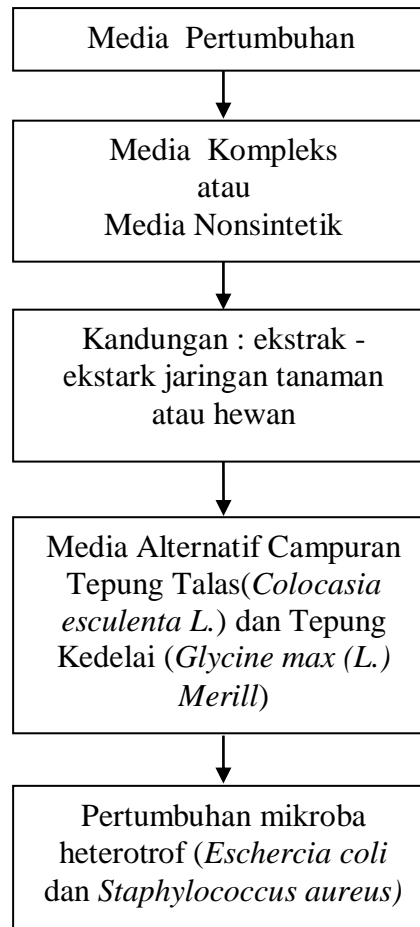
S. aureus menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit, seperti bisul dan furunkulosis; infeksi yang lebih serius, seperti pneumonia, mastitis, flebitis, dan meningitis; dan infeksi pada saluran urine. Selain itu *S. aureus* juga menyebabkan infeksi kronis, seperti osteomielitis dan endokarditis. *S. aureus* dapat menyebabkan keracunan makanan akibat enterotoksin yang dihasilkannya dan menyebabkan renjat toksik akibat pelepasan superantigen ke dalam aliran darah (Radji, 2011).

S. aureus merupakan spesies yang paling penting dalam sudut pandang pengobatan manusia. *S. aureus* mudah untuk dikultivasi pada media pertumbuhan nutrisi (Kayser, dkk., 2005).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) atau Sistem Informasi Taksonomi Terpadu adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*
Subkingdom : *Posibacteria*
Filum : *Firmicutes*
Kelas : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*
Subspesies : *Staphylococcus aureus aureus*

B. Kerangka Teori



Gambar 5. Kerangka Teori
Sumber : Cappuccino, 2013

C. Hipotesis

Campuran tepung talas dan tepung kedelai dapat dimanfaatkan sebagai alternatif media pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.