

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

Media merupakan substansi cairan yang telah diatur komposisi nutrisinya untuk menumbuhkan bakteri sehingga dapat diamati dan mempelajari sifat-sifat dari bakteri tersebut (Sutarma, 2000).

1. Sumber nutrisi mikroorganisme

Menurut Dwidjoseputro (2005) medium yang mengandung zat-zat organik merupakan tempat yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Menurut Jawetz, dkk (2005), media harus memperhatikan beberapa faktor seperti:

a. Sumber Energi Metabolik

Mekanisme untuk menghasilkan energi metabolik adalah fermentasi, respirasi dan fotosintesis.

b. Nutrisi

Media perbenihan harus mengandung seluruh elemen penting yang dibutuhkan untuk sintesis pada organisme. Suplai elemen yang dibutuhkan oleh organisme sebagai berikut:

1) Karbon

Sejumlah reaksi biosintesis membutuhkan karbondioksida sebagai medium pertumbuhan, seperti pada organisme kemolitotrof. Organisme kemolitotrof adalah organisme yang menggunakan substrat anorganik seperti hidrogen sebagai reduktan dan karbondioksida sebagai sumber karbon.

2) Nitrogen

Berat kering sel bakteri adalah 10 persen terdiri dari protein dan asam nukleat, sedangkan kedua bahan tersebut dapat diperoleh dari Nitrogen

3) Belerang

Belerang merupakan komponen yang memiliki banyak substansi organik sel, seperti nitrogen.

4) Mineral

Banyak jenis mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan organisme. Ion-ion mineral biasanya digunakan dalam merumuskan formula media pembiakan mikroorganisme. Contoh mineral yang sering digunakan seperti K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} dan lainnya.

5) Faktor pertumbuhan

Faktor pertumbuhan adalah senyawa anorganik dimana setiap sel harus memiliki faktor tersebut, akan tetapi faktor pertumbuhan tidak dapat disintesis sendiri.

c. Faktor Lingkungan

Menurut Jawetz, dkk (2005), media pertumbuhan yang baik juga harus memperhatikan beberapa faktor seperti

1) Konsentrasi pH

Organisme kebanyakan memiliki rentang pH yang sempit, maka dari itu dibutuhkan penentuan pH optimal secara empirik agar pertumbuhan bakteri dapat maksimal. (Jawetz, dkk, 1996)

2) Suhu

Pertumbuhan enzim-enzim seluler mikroba dipengaruhi oleh kondisi suhu. Suhu yang meningkat akan menyebabkan kativitas enzim yang meningkat sehingga struktur protein terdenaturasi. Sebaliknya, jika suhu diturunkan maka akan mengakibatkan bakteri mengalami masa inaktivasi karena reaksi metabolisme berkurang secara bertahap. (Cappucino, dkk, 2013)

3) Oksigen Atmosferik

Mikroorganisme memiliki kebutuhan oksigen (O₂) yang beragam, karena kebutuhan penggunaan oksigen tergantung pada kemampuan mikroorganisme tersebut dalam melakukakn respirasi seluler. (Cappucino, dkk, 2013).

2. Jenis media

Menurut Cappuccino (2013) media pertumbuhan bakteri berdasarkan kebutuhan nutrisi terdiri dari:

a. Media ditetapkan Secara Kimia (Sintetik)

Media ini terdiri dari sejumlah tertentu senyawa organik dan anorganik yang spesifik yang murni secara kimia. Media yang ditetapkan secara kimia yaitu Kaldu Sintetik Anorganik dan Kaldu Garam-Garam Glukosa.

b. Media Kompleks (Non Sintetik)

Komposisi kimia media ini tidak diketahui secara pasti. Media ini terdiri dari ekstrak jaringan tanaman dan hewan dan bervariasi dalam komposisi kimianya. Contoh media kompleks yaitu kaldu nutrient daan kaldu ekstrak khamir.

3. Komposisi media

Menurut Atlas (2010) media untuk kultur organisme harus mengandung zat-zat yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Umumnya media untuk kultur bakteri mengandung pepton, ekstrak daging atau ekstrak tanaman dan agar.

a. Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan adalah jumlah organisme yang mengalami peningkatan secara teratur. Perkembangbiakan adalah hasil dari pertumbuhan sehingga meningkatkan jumlah individu yang merupakan anggota suatu populasi atau biakan. (Jawetz, dkk. 1996)

b. Faktor Pertumbuhan Mikroba

Menurut Jawetz, dkk (2005), media pertumbuhan yang baik juga harus memperhatikan beberapa faktor seperti:

1) Konsentrasi pH

Organisme kebanyakan memiliki rentang pH yang sempit, maka dari itu dibutuhkan penentuan pH optimal secara empiric agar pertumbuhan bakteri dapat maksimal. (Jawetz, dkk, 1996)

2) Suhu

Pertumbuhan enzim-enzim seluler mikroba dipengaruhi oleh kondisi suhu. Suhu yang meningkat akan menyebabkan aktivitas enzim yang meningkat sehingga struktur protein terdenaturasi. Sebaliknya, jika suhu diturunkan maka akan mengakibatkan bakteri mengalami masa inaktivasi karena reaksi metabolisme berkurang secara bertahap.

(Cappucino, dkk, 2013)

3) Oksigen Atmosferik

Mikroorganisme memiliki kebutuhan oksigen (O_2) yang beragam, karena kebutuhan penggunaan oksigen tergantung pada kemampuan mikroorganisme tersebut dalam melakukan respirasi seluler.

(Cappucino, dkk, 2013)

c. Kurva Pertumbuhan

Penelitian mengenai pertumbuhan bakteri memerlukan inokulasi menggunakan sel sel yang mampu hidup dengan media kaldu steril dan diinkubasi pada kondisi lingkungan yang optimum. Pada kondisi tersebut sel sel yang tumbuh dapat digambarkan menggunakan kurva pertumbuhan yang dibuat berdasarkan peningkatan jumlah pertumbuhan berdasarkan waktu inkubasi. (Capuccino, 2014). Berikut merupakan fase pada kurva pertumbuhan bakteri:

1) Fase Lag

Fase dimana sel sel bakteri menyesuaikan diri terhadap lingkungan yang baru. Pada fase ini ukuran sel-sel meningkat tetapi tidak terjadi pembelahan sehingga tidak terjadi peningkatan sel.

2) Fase logaritmik (log)

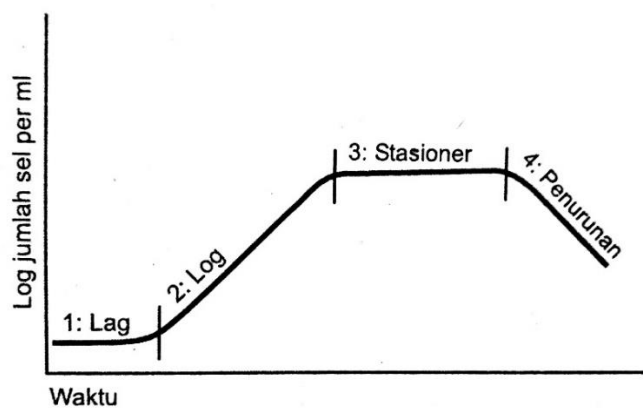
Sel sel yang sehat secara fisiologis bereproduksi dengan cepat dengan pembelahan biner pada kondisi nutrisi serta fisik yang optimum. Sehingga terjadi peningkatan jumlah sel pada populasi secara teratur hingga jumlah maksimum tercapai.

3) Fase stasioner

Pada tahap ini grafik berbentuk datar karena jumlah sel sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel sel yang mati sehingga tidak terjadi peningkatan.

4) Fase penurunan/kematian

Pada fase ini mikroorganisme mati dengan laju yang cepat, hal ini dikarenakan nutrisi yang berkurang secara berkelanjutan dan bertambahnya buangan metabolik.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Bakteri
Sumber: Cappuccino, 2013

4. Media *Nutrient Agar*

a. Definisi

Nutrient Agar (NA) adalah media universal untuk menumbuhkan bakteri. Media NA berbentuk padat dan mengandung berbagai macam bahan untuk menunjang kehidupan bakteri. Kandungan pada media NA merupakan campuran dari pepton sebagai sumber nitrogen yang utama dan ekstrak daging sapi sebagai sumber karbon organik, vitamin organik, nitrogen

organik, vitamin organik dan garam anorganik.

b. Komposisi

1) Pepton

Pepton merupakan salah satu bahan yang digunakan sebagai sumber nitrogen pada media pertumbuhan mikroba (Saputra dan Nurhayati, 2013). Pepton adalah protein terhidrolisis yang terbentuk dari pencernaan asam atau enzimatik. Kasein sering digunakan sebagai substrat protein untuk membentuk protein, akan tetapi zat lain seperti kacang kedelai juga dapat digunakan.

2) *Beef extract*

Bakteri membutuhkan sumber makanan yang mengandung C, H, O dan N yang berguna untuk menyusun protoplasma (Dwidjoseputro, 2005). Karbon merupakan salah satu substrat utama yang digunakan untuk metabolisme bakteri. Sumber karbon dapat diperoleh dari sumber karbohidrat, protein dan lemak yang terdapat pada ekstrak daging (Radji, 2011)

3) Agar

Agar digunakan hanya sebagai bahan pengental dan tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri, akan tetapi enzim-enzim bakteri dapat mengencerkan agar (Dwidjoseputro, 1989).

5. Ekstrak ragi

a. Definisi

Ekstrak ragi adalah istilah kolektif yang digunakan untuk menggambarkan

ragi yang telah diproses digunakan sebagai aditif untuk makanan atau hanya sebagai penyedap makanan yang berfungsi sama seperti MSG atau *monosodium glutamat*. Ekstrak ragi mengandung apa yang dikenal sebagai asam glutamat, yang terbuat dari asam dan basa fermentasi. Asam ini biasanya hanya ditemukan pada produk ragi.

b. Kandungan Ekstrak ragi

Ekstrak ragi sebagai sumber nitrogen berperan dalam proses fisiologis, seperti pembentukan protein, asam nukleat, dan koenzim. Di samping itu juga berperan dalam pertumbuhan sel serta menjaga dan memelihara kemampuan sel untuk membentuk enzim. Nitrogen merupakan komponen protein, asam nukleat, dan beberapa substansi penting lainnya yang dibutuhkan untuk pembentukan protoplasma dan berfungsi memperbaiki pertumbuhan vegetatif. Vitamin yang terkandung dalam ekstrak ragi antara lain thiamin, riboflavin, piridoksin, niasin, dan asam pantotenat. Vitamin-vitamin tersebut sering digunakan untuk ingredien pada media kultur jaringan. Thiamin sangat esensial dalam kultur *in vitro* walaupun dibutuhkan plantlet dalam jumlah sedikit. Pemberian thiamin dalam media kultur dapat merangsang pertumbuhan eksplan dan meningkatkan pertumbuhan akar (Naufal,2021).

6. Ubi Jalar

a. Definisi

Ubi jalar memiliki nama latin *Ipomoea batatas* termasuk dalam family *Convolvulaciae*. Kulit ubi jalar relatif tipis daripada kulit dari jenis umbi

yang lainnya. Golongan ubi jalar umumnya dibagi menjadi dua yaitu ubi jalar berumbi keras (karena memiliki kandungan pati yang banyak) dan ubi jalar berumbi lunak (karena memiliki kandungan air). Menurut warnanya, ubi jalar memiliki jenis yang berbeda beda pula, yaitu ubi jalar putih, merah, ungu, dan kuning. Ubi jalar mengandung zat penting seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, serat, dan vitamin A. Ubi jalar (*Ipomoea batatas*) ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. *Ipomoea batatas* (Ubi Jalar)
Sumber: Rizki, 2021

b. Klasifikasi

Menurut Sunarti (2017), klasifikasi *Ipomoea batatas* sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
Class : Dicotyledona
Ordo : Solanales
Familia : Convolvulceae
Genus : *Ipomoea*
Spesies : *Ipomoea batatas* L.

c. Kandungan Ubi Jalar

Karbohidrat dalam ubi jalar merupakan sumber energi yang baik. Menurut Soenarjo (1984) sebagaimana dikutip Winarti (2010) varietas, lokasi dan musim tanam ubi mempengaruhi komposisi ubi. Komposisi kimia ubi jalar ditunjukkan dalam tabel

Tabel 1. Kandungan gizi Ubi jalar per 100 gram

Kandungan Gizi	Ubi jalar
Energi (kal)	119
Protein (g)	0,5
Lemak (g)	0,4
Karbohidrat (g)	25,1
Air	72,6

Sumber: Data Komposisi Pangan Indonesia, 2018

1) Karbohidrat

Waktu dipanen ubi jalar mengandung 16-40% bahan kering. Sebagian besar dari jumlah tersebut mengandung pati, gula, selulosa, hemiselulosa, dan pektin. Karbohidrat yang terdapat pada ubi jalar terdapat dalam bentuk pati. Kadar gula pada ubi jalar dapat bertambah selama penyimpanan, maka dari itu ubi jalar sebaiknya disimpan terlebih dulu selama 1-2 minggu sebelum dikonsumsi atau digunakan. Selama penyimpanan akan terjadi penurunan kadar pati, kenaikan kadar sukrosa, dan kenaikan kadar gula pereduksi

2) Protein

Ubi jalar memiliki kandungan protein 1.3-10%. Pada umumnya, ubi jalar hanya menyediakan sejumlah kecil asam amino esensial. Protein yang terdapat dalam ubi jalar disebut *ipomoein*, yang selama

disimpan terkonversi menjadi polipeprida.

3) Mineral

Mineral terbanyak yang terdapat pada ubi jalar adalah K (potassium). Selain itu terdapat mineral Na, P, Ca, Mg, S, Fe dan mineral lainnya dalam jumlah yang sedikit.

4) Lemak

Lemak merupakan bagian kecil yang terdapat dalam ubi jalar. Lemak hanya berkisar antara 0.29-2.7% (basis kering). Asam lemak utama yang terdapat pada ubi jalar adalah linoleate, linolenat, palmitat dan stearate. Sedangkan lipid terdiri dari 3 fraksi yaitu non fosfo-lipid, sepalin dan lesitin.

7. Kacang Kedelai

a. Definisi

Kacang kedelai (*Glycine max*) merupakan makanan yang mengandung tinggi protein, lemak, vitamin (Vitamin A, E, K dan beberapa jenis B) serta mineral (K, Fe, Zn dan P), akan tetapi kacang kedelai memiliki kadar karbohidrat yang rendah.

Produk yang mengandung kacang kedelai umumnya bergizi tinggi, pengandung protein yang mudah dicerna dan mempunyai nilai protein yang dapat disejajarkan dengan protein hewani. Produk kedelai juga bebas laktosa sehingga dapat dikonsumsi bagi konsumen yang menderita intoleransi laktosa. (Winarti, 2010). Kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill.) ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. *Glycine max* (L.) Merrill. (Kacang Kedelai)

Sumber: Rizki, 2021

b. Klasifikasi

Menurut Adisarwanto (2015) tanaman kedelai memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut:

Divisi : *Spermatophyta*
Sub Divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Rosales*
Famili : *Leguminoceae*
Sub Famili : *Papilionoideae*
Genus : *Glycine*
Spesies : *Glycine max* (L.) Merrill.

c. Kandungan kacang kedelai

Kacang kedelai merupakan bahan pangan yang memiliki kandungan vitamin dan mineral yang tinggi. Selain itu kacang kedelai memiliki kandungan protein yang tinggi dibandingkan dengan kacang yang lain yaitu sekitar 35-38%.

Berikut merupakan komposisi gizi dalam 100g kedelai:

Tabel 2. Kandungan gizi Kedelai per 100 gram

Kandungan Gizi	Kedelai
Energi	381 Kal
Protein	40,4 g
Karbohidrat	24,9 g
Lemak	16,7 g

Sumber: Data Komposisi Pangan Indonesia, 2018.

8. Penepungan

a. Tepung

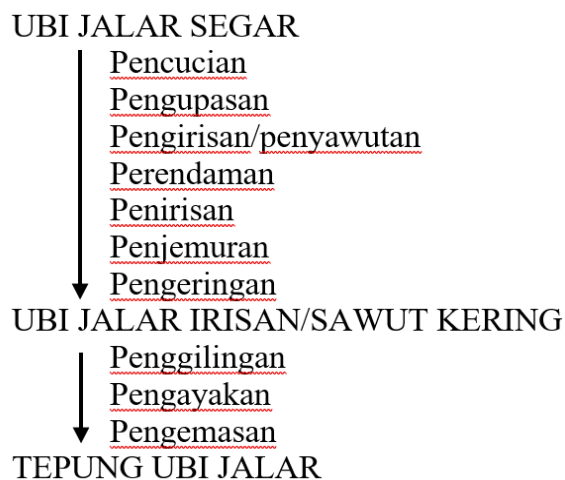
Tepung adalah bentuk hasil pengolahan bahan dengan cara penggilingan. Kadar air dalam tepung yang rendah mempengaruhi keawetan tepung. Jumlah air yang terkandung dalam tepung dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sifat, jenis dan asal bahan baku, pembuatan tepung, kelembaban udara, perlakuan tepung, penyimpanan dan pengemasan tepung. Cara yang sering dilakukan untuk menurunkan kadar air adalah dengan pengeringan, baik dengan penjemuran atau dengan alat pengering biasa (Nurani dan Yuwono, 2014).

Proses pembuatan tepung pada umumnya terdiri dari pemilihan bahan, pembersihan, pemotongan atau pengecilan ukuran, pengeringan, penggilingan atau penepungan kemudian penyaringan (Murtiningsih dan Suryanti, 2011)

b. Tepung Ubi Jalar

Tepung ubi jalar dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang industry. Jenis ubi jalar yang sesuai untuk pembuatan tepung adalah yang memiliki kadar bahan kering dan pati tinggi serta kadar air yang rendah. Menurut Marudut

dan Sundari (2000) dalam Astawan (2009) tepung ubi jalar memiliki kandungan energi sebesar 355 kkal dan karbohidrat sebesar 80,6 gram per 100 gram. Tepung ubi jalar memiliki kadar protein yang lebih rendah sehingga untuk meningkatkannya dapat dicampur dengan tepung kacang-kacangan. Proses pengolahan tepung ubi jalar disajikan dalam gambar



Gambar 4. Pengolahan tepung Ubi Jalar

Sumber: Ginting, dkk. 2006

c. Tepung Kedelai

Tepung kedelai dapat dibuat dari biji kedelai yang melalui proses pemanasan yang memiliki tujuan untuk menginaktifkan antitripsin dan lipoksigenasi sehingga kedelai tidak berbau. Menurut Widowati (2007) tepung kedelai memiliki tahap pembuatan sebagai berikut:

- 1) Sortasi: Dilakukan untuk memilih kedelai yang memiliki mutu baik, tidak rusak atau pecah.
- 2) Perendaman: Tahap perendaman dilakukan selama 8-12 jam. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan kadar air sehingga konduktivitas panas biji kedelai lebih baik. Selain itu untuk mempermudah destruksi antitripsin.

- 3) Perebusan dan penirisan: Perebusan dilakukan selama 30 menit kemudian ditiriskan serta dihilangkan kulit arinya
- 4) Pengeringan: Pengeringan dapat dilakukan menggunakan pengering dalam suhu 50-60°C atau dibawah sinar matahari
9. Penggilingan: Penggilingan dilakukan menggunakan alat penghalus kemudian diayak hingga menjadi tepung.

9. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa aktif yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain (Sholikin, 2016).

Ekstraksi merupakan sediaan kental yang didapatkan dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, semua pelarut diuapkan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Proses pembuatan ekstrak diawali dari pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan) yang memiliki derajat kehalusan tertentu. Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, sehingga senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Berikut macam-macam metode ekstraksi:

a. Cara panas

1) Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didih yang tinggi, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga didapatkan proses ekstraksi sempurna (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2) Soxhlet

Soxhlet merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Departemen Kesehatan RI, 2000). 3) Infusa Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan membuat simplisia dari bahan nabati dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 15 menit (Anief, 1994).

3) Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) dengan temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40- 50oC (Departemen Kesehatan RI, 2000). 5) Dekok Dekok merupakan infusa pada waktu

yang lebih lama ($\geq 30^{\circ}\text{C}$) dan temperature sampai titik didih air (Departemen Kesehatan RI, 2000).

b. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplesia dengan menggunakan pelarut dalam wadah tertutup untuk jangka waktu tertentu disertai dengan pengadukan komponen sampel yang larut. Metode ini umumnya digunakan untuk senyawa kimia tumbuhan yang tidak tahan panas (Tatang, 2019).

2. Perkolasi

Menurut Tatang (2019), Perkolasi merupakan prosedur ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam tumbuhan. Ekstraksi ini selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan (Departemen Kesehatan RI, 2000).

10. *Escherichia coli*

a. Definisi

Escherichia coli merupakan flora normal yang terdapat dalam saluran pencernaan. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif berbatang pendek yang mudah tumbuh di media seperti *MacConkey Agar* dan *Nutrient Agar*. *Escherichia coli* memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm , serta memiliki sifat anaerob fakultatif yaitu bakteri yang dapat hidup dengan atau tanpa oksigen. *Escherichia coli* membentuk koloni

yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz et al., 2007)

b. Klasifikasi

Menurut Songer (2005) klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

c. Morfologi

Escherichia coli merupakan famili dari Enterobacteriaceae. Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek (kokobasil), memiliki flagel, berukuran 0,4-0,7 μ m x 1,4 μ m serta memiliki simpai. *Escherichia coli* dapat tumbuh dengan baik di hamper semua media perbenihan, dapat meragi laktosa serta bersifat mikro-aerofilik (Radji, 2010). identifikasi bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan pada Tabel 3.

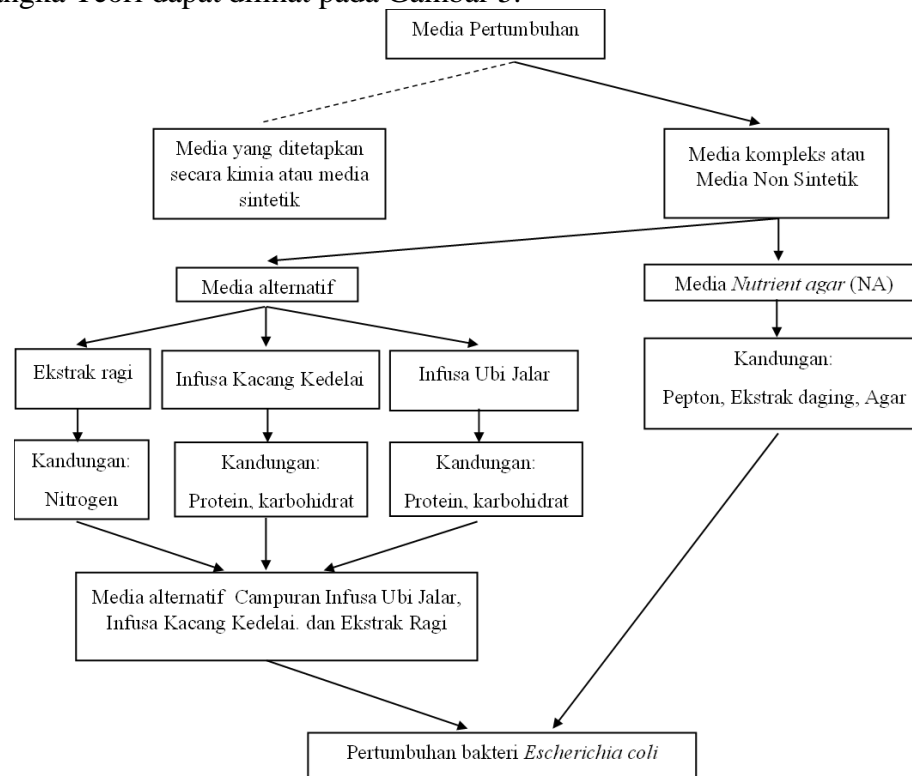
Tabel 3. Identifikasi *Escherichia coli*

Perlakuan	Hasil
Pewarnaan gram	Batang
Karakteristik biakan	Putih, lembab, mengkilap
Laktosa	Asam dan gas
Dekstrosa	Asam dan gas
Sukrosa	Asam
H ₂ S	-
Reduksi NO ₃	+
Indol	+
Sitrat	-
Urease	-
Katalase	+
Oksidase	-
Pencairan Gelatin	-
Hidrolisis Pati	-
Hidrolisis lipid	-

Sumber: Cappuccino, 2014

B. Kerangka Teori

Kerangka Teori dapat dilihat pada Gambar 5.

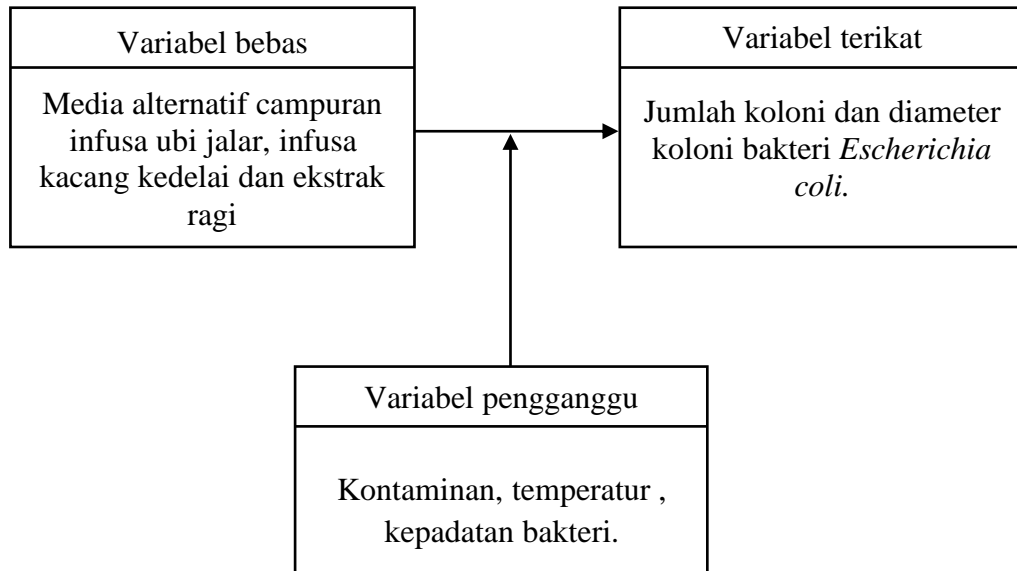


Gambar 5. Kerangka Teori

Sumber: Cappuccino, 2013

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan antar variabel

D. Hipotesis

Campuran Infusa Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*), Infusa Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dan Ekstrak Ragi efektif digunakan sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*.