

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik mikroskopis yang pada umumnya bersel tunggal, dan tidak memiliki membran inti sel (Febriza, Adrian dan Sucipto, 2021). Bakteri dapat tumbuh, berkembangbiak dan bermetabolisme dalam menunjukkan proses dasar kehidupan. Secara umum bakteri tidak memiliki klorofil dan berfotosintesis. Namun terdapat beberapa bakteri yang dapat berfotosintesis, memiliki RNA dan DNA, dapat hidup bebas, bersifat parasit, saprofit atau pathogen terhadap manusia, hewan dan tumbuhan (Lantang, 2023).

a. Faktor media kultur

Media kultur merupakan suatu bahan berisi campuran nutrisi yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Media kultur mengandung bahan yang dibutuhkan organisme dalam proporsi tertentu, seperti sumber energi, berbagai makro dan mikronutrien, vitamin, dan lain-lain. Selain itu, media harus memiliki pH yang sesuai dan steril, sehingga organisme yang dikembangkan dapat membentuk kultur murni (Atmanto, Asri dan Kadir, 2022).

Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri :

1) Mengandung sumber energi

Media kultur yang baik mengandung sumber energi yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri, yang diperoleh dari oksidasi senyawa organik dalam media seperti karbohidrat dan protein.

2) Mengandung sumber karbon (C)

Sumber karbon (C) dapat diperoleh dari senyawa organik seperti protein dan karbohidrat. Protein bisa diperoleh dari ekstrak daging atau pepton, sedangkan karbohidrat bisa berupa glukosa, laktosa, dan sukrosa.

3) Mengandung sumber nitrogen (N)

Sumber nitrogen (N) untuk kebutuhan nutrisi ada dua jenis yaitu nitrogen anorganik dan nitrogen organik. Nitrogen anorganik biasanya diperoleh dari amoniumnitrat (NH_4NO_3) atau ammonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), sementara nitrogen organik diperoleh dari protein pepton atau asam-asam amino (Atmanto, Asri dan Kadir, 2022).

4) Nutrien

Nutrien yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri dalam media „yaitu sumber energi, sumber karbon, sumber nitrogen, pH 7,2-7,6, potensial oksidasi-reduksi yang tepat, serta garam-garam sulfat, fosfat, dan lainnya (Krihariyani, Woelansari dan Kurniawan, 2016).

b. Pewarnaan gram

Pewarnaan gram pertama kali dijelaskan oleh Hans Christian Joachim gram. Pewarnaan gram merupakan prosedur pewarnaan menggunakan 4 jenis reagen kimia (diferensial) yang biasa dilakukan di laboratorium untuk pengamatan bakteri secara mikroskopis. Reaksi pewarnaan gram dapat diklasifikasikan sebagai gram positif dan gram negatif. Gram positif menghasilkan warna biru tua atau ungu karena bakteri mempertahankan pewarnaan kristal violet primer. Sedangkan pada gram negatif menghasilkan warna merah atau merah muda karena pengecatan dapat didekolorisasi sehingga kehilangan pewarnaan primer dan menyerap counterstain safranin. Reaksi pewarnaan gram menggambarkan adanya perbedaan struktur dinding sel yang relevan terhadap antibiotik dan membantu dalam identifikasi (Amalia, dkk., 2023).

Pengecatan gram dilakukan menggunakan empat macam reagen pewarnaan yang terdiri dari gram A (kristal violet) sebagai zat warna utama menjadi ungu pada gram positif, gram B (iodin) sebagai pengikat warna ungu pada dinding sel bakteri, gram C (alkohol) untuk mencuci zat warna dan gram D (safranin) untuk mewarnai warna merah pada gram negatif. Bakteri *Streptococcus pyogenes* memiliki warna ungu jika diamati menggunakan mikroskop sehingga termasuk ke dalam gram positif. Bakteri ini mempertahankan pewarnaan kristal violet primer.

c. Bentuk bakteri

Menurut Lantang, 2023 bakteri dibedakan menjadi tiga bentuk umum yaitu bentuk bulat (*coccus*), batang (*bacillus*) dan bentuk lengkung. Pada bakteri *Streptococcus pyogenes* memiliki bentuk bulat dengan formasi berderet. Berikut macam macam bentuk bakteri berbentuk bulat (*coccus*) pada bakteri.

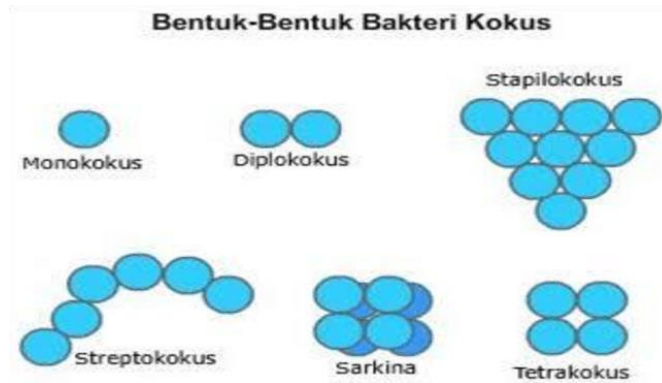
1) Bentuk bulat (kokus)

Bakteri dengan bentuk bulat dapat dibedakan menjadi beberapa kelompok berdasarkan pengelompokkan selnya, yaitu terdiri *microoccus* (*monococcus*), *diplococcus*, *staphylococcus*, *streptococcus*, *tetracoccus* dan *sarcina*.

Macam-macam bentuk kokus pada bakteri :

- a) *Monococcus*, yaitu bakteri berbentuk bulat yang terdiri dari sel tunggal.
- b) *Diplococcus*, yaitu bakteri berbentuk bulat dengan pola dua sel yang berdempetan.
- c) *Staphylococcus*, yaitu bakteri berbentuk bulat dengan pola berkelompok yang terdiri lebih dari empat sel yang menyerupai anggur.
- d) *Streptococcus*, yaitu bakteri berbentuk bulat dengan pola berderet membentuk rantai yang terdiri lebih dari empat sel.
- e) *Tetracoccus*, yaitu bakteri berbentuk bulat dengan pola membentuk segi empat yang terdiri dari empat sel yang berdempetan.

- f) *Sarcina*, yaitu bakteri berbentuk bulat dengan pola membentuk kubus yang terdiri dari empat sel yang berdempetan.



Gambar 1. Bentuk-bentuk Bakteri Kokus

Sumber : Lantang, 2023.

d. Kemampuan hemolisis

Identifikasi bakteri dapat dilakukan melalui fenotipenya, seperti kemampuannya melisiskan eritrosit. Bakteri yang mampu melisiskan eritrosit cenderung lebih virulen dibandingkan yang tidak memiliki kemampuan melisiskan eritrosit. Kemampuan ini ditentukan pada substansi protein ekstraseluler yang disebut hemolisin. Pada media agar darah, bakteri penghasil hemolisin menunjukkan perubahan warna di zona pertumbuhan koloni.

- 1) β -hemolisis: Ditandai dengan zona jernih di sekitar koloni yang menunjukkan perusakan eritrosit secara penuh.
- 2) α -hemolisis: Memperlihatkan zona tidak jernih yang menunjukkan perusakan eritrosit sebagian.
- 3) Non-hemolitik: Tidak menunjukkan perubahan zona, karena tidak merusak eritrosit.

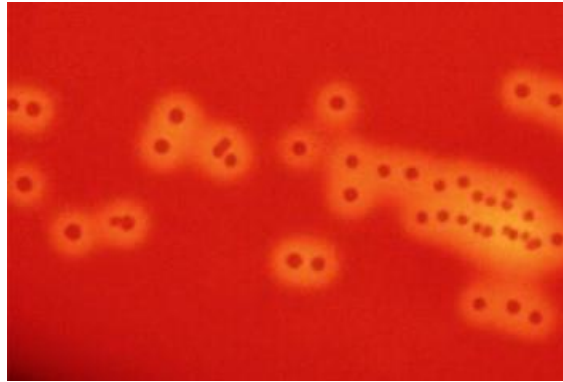
Berdasarkan genetika dan serologis antara enterohemolisin dan α -hemolisin, terdapat perbedaan yang dapat terlihat dari zona lisis pada media agar darah dan waktu terdeteksinya. α -hemolisin muncul 3 jam setelah inkubasi pada suhu 37°C, sedangkan enterohemolisin membutuhkan waktu semalam dengan zona hemolisis yang biasanya lebih kecil (Suardana, Utama dan Wibowo, 2014). Bakteri *Streptococcus pyogenes* memiliki kemampuan melisis eritrosit secara sempurna sehingga membentuk zona bening di sekitar tempat pertumbuhan kuman sehingga termasuk ke dalam β -hemolisis.

2. Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes adalah bakteri gram positif yang menjadi salah satu patogen utama yang menginfeksi manusia pada saluran pernapasan seperti faringitis atau tonsilitis dan kulit seperti pyoderma (Korompis dan Nangoy, 2017). Bakteri memiliki ukuran yang sangat kecil, dengan satuan pengukuran dalam bakteriologi menggunakan mikron atau mikrometer (μm). Satu mikrometer setara dengan sepersejuta meter atau seperseribu milimeter, sementara satu nanometer (nm) adalah seperseribu mikron. Secara umum, diameter bakteri berkisar antara 0,2-1,5 μm , dengan panjang sekitar 3-5 μm (Amelia, dkk., 2023). Bakteri *Streptococcus pyogenes* berukuran lebih dari 0,5 mm dengan kemampuan membentuk hemolisis beta yang menghasilkan zona luas berdiameter sekitar 1 cm (Lantang, 2023).

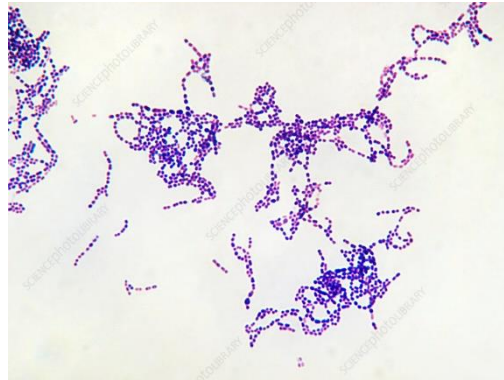
Streptococcus pyogenes berkoloni di kulit dan tenggorokan manusia, dengan mekanisme virulensi yang kompleks untuk menghadapi sistem kekebalan tubuh. *Streptococcus pyogenes* merupakan bakteri patogen yang ditanam pada media perbenihan cair atau padat yang cocok. Bakteri ini termasuk ke dalam bakteri gram positif bersifat anaerob fakultatif dengan membentuk rantai panjang dan berbentuk bulat. Struktur antigen pada *Streptococcus pyogenes* jauh lebih kompleks dan biasanya dalam sputum dapat hidup beberapa minggu (Suhartati, 2018).

Streptococcus pyogenes mengandung antigen golongan A yang bersifat β -hemolitik (Lantang, 2023). Morfologi koloni bakteri berwarna putih abu-abu dan dikelilingi zona hemolisis beta. *Streptococcus pyogenes* merupakan bakteri gram positif dari genus *Streptococcus*, bersifat katalase negatif, oksidase negatif, β -hemolitik, anaerob fakultatif, dan tumbuh optimal dalam kondisi 5-10% karbon dioksida. Sistem serologi Lancefield digunakan untuk mengidentifikasi *Streptococcus* grup A (GAS) yang membedakannya dari spesies lain. Sebagai patogen, GAS dapat menyebabkan infeksi ringan seperti faringitis dan impetigo, hingga penyakit invasif serius seperti septikemia, *Streptococcal Toxic Shock Syndrome* (STSS), dan *Necrotizing Fasciitis* (Shinta, Setia dan Turnip, 2024). Bakteri *Streptococcus pyogenes* rentan terhadap antibiotik bacitracin dan positif pada test *Hidrolisis l-pyrrolidonyl- β -naphthylamide* (PYR^b) (Umarudin, dkk., 2023).



Gambar 2. Makroskopis Morfologi Koloni Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Sumber : Hossain Z., 2014.



Gambar 3. Mikroskopis Pewarnaan Gram dan Bentuk Sel

Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Sumber : Eye Of Science/Science Photo Library, 2019.

3. Media kultur bakteri

Media Kultur bakteri merupakan media sebagai pertumbuhan mikroorganisme yang mengandung campuran zat-zat makanan yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri. Mikroorganisme memerlukan nutrisi khusus pada media kultur yang disebut *fastidious*. *Fastidious* yaitu dilakukan perlakuan khusus pada bakteri yang memerlukan pengkaya nutrisi. Sedangkan media kultur yang hanya memerlukan nutrisi dasar untuk

memenuhi nutrisi pertumbuhan bakteri disebut *nonfastidious* (Amalia, dkk., 2023).

Menurut Amalia, dkk., 2023 media kultur dapat dikelompokkan berdasarkan tujuan penggunaan :

a. Media Nutrisi Dasar (*General Media*)

Media ini menyediakan nutrisi untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme *nonfastidious* tanpa memberikan nutrisi khusus untuk mikroorganisme jenis tertentu. Contohnya adalah *trypticase soy broth*/agar dan *nutrient agar*.

b. Media Kaya (*Enriched Media*)

Media ini terdiri dari komponen dasar untuk pertumbuhan mikroorganisme, ditambah dengan bahan kompleks seperti darah, serum, atau kuning telur yang dibutuhkan oleh bakteri *fastidious*. Bakteri *fastidious* yaitu bakteri membutuhkan perlakuan khusus sehingga memerlukan nutrisi yang kompleks. Contohnya termasuk *sheep blood agar* dan *chocolate agar*.

c. Media Perbanyak (*Enrichment Media*)

Media ini mengandung nutrisi spesifik yang diperlukan untuk meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme target dari sampel yang diduga memiliki lebih dari satu jenis mikroorganisme.

d. Media Selektif

Media ini mengandung zat penghambat yang mencegah pertumbuhan mikroorganisme lain, sehingga hanya mendukung

pertumbuhan mikroorganisme target. Zat inhibisi yang biasa digunakan meliputi pewarna, garam empedu, asam, alkohol, dan antibiotik.

e. Media Diferensial

Media ini memungkinkan koloni mikroorganisme yang tumbuh menunjukkan karakteristik tertentu, sehingga mempermudah dalam membedakan jenis mikroorganisme yang tumbuh.

f. Media Kombinasi

Media kombinasi memiliki lebih dari satu fungsi, seperti *Mac Conkey* agar, yang bersifat selektif dan diferensial. Sifat selektifnya berasal dari garam empedu dan kristal violet yang menghambat bakteri Gram-positif. Sementara itu, sifat diferensialnya disebabkan oleh kandungan laktosa, di mana bakteri Gram-negatif fermentatif membentuk koloni merah muda, sedangkan bakteri non-fermentatif tampak tidak berwarna.

Berdasarkan bentuknya, media dapat dikelompokkan menjadi media padat, media cair, dan media semipadat :

- a. Media Padat: Dibuat dengan menambahkan agen pemat, seperti agarose (1,5%), ke larutan nutrisi dan air. Media ini bertujuan untuk mendapatkan koloni terisolasi yang hanya mengandung satu spesies mikroorganisme melalui teknik seperti *streak plate*, *spread plate*, atau *pour plate*.
- b. Media Cair (*Broth*): Berupa larutan nutrisi tanpa agen pemat, contohnya *Brain-Heart Infusion broth* (BHI), *Trypticase Soy Broth*

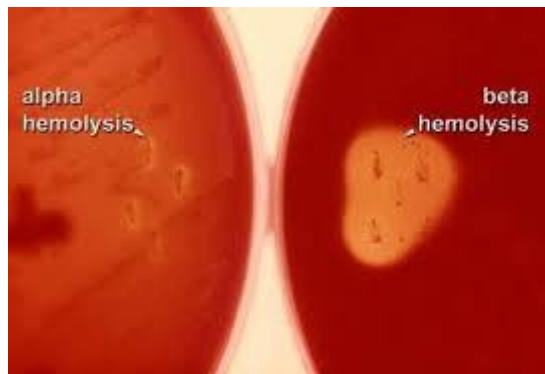
(TSB), *Thioglycolate broth* untuk bakteri anaerob, dan *alkaline peptone water* untuk *Vibrio spp.* Mikroorganisme diamati dari perubahan media menjadi keruh. Media ini digunakan untuk memperbanyak mikroorganisme dan mendukung uji biokimia, serta dapat bersifat selektif atau *enrichment* untuk memperbanyak mikroorganisme target secara spesifik bersamaan dengan menghambat mikroorganisme lain (Amalia, dkk., 2023).

4. Media *Blood Agar Plate*

Media agar darah (*Blood Agar Plate*) merupakan media padat yang diperkaya karena penambahan darah, sekaligus berfungsi sebagai media diferensial. Pembuatan media ini dilakukan dengan menambahkan 5-10% v/v darah defibrinasi steril ke dalam agar darah base steril yang telah didinginkan hingga 45°-50°C. Media ini digunakan untuk membedakan bakteri hemolitik dan non-hemolitik berdasarkan kemampuannya menghemolisis sel darah merah (Ekawati, 2015).

Media agar darah sering digunakan untuk kultur sampel, seperti swab apus atau swab tenggorokan, guna mendeteksi *Streptococcus* Grup A beta hemolitik. Kandungan glukosa atau karbohidrat dalam media dapat memengaruhi jenis hemolisis yang dihasilkan. Meski *Streptococcus pyogenes* tidak membutuhkan darah untuk tumbuh, penambahan darah dalam media menyediakan nutrisi tambahan yang mendukung pertumbuhan lebih subur (Nurhidayanti, 2019). Komposisi pada media BAP terdiri dari *Nutrient substrate* 40 gram sebagai sumber energi / nutrisi bagi bakteri,

Natrium chloride (Merck) 5% (v/w) sebagai pengatur kesetimbangan tekanan osmosis dan Agar 15% sebagai bahan pematid media.



Gambar 4. Perbedaan Hemolisis Alpha dan Hemolisis Beta pada Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Sumber : <https://medicinenet.com/>

Darah domba menjadi komponen esensial dalam pembuatan media agar darah, yang berfungsi sebagai media standar untuk isolasi bakteri dengan kemampuan menghancurkan darah. Media ini mengandung 5-10% darah mamalia (biasanya domba) yang tidak beku. Penambahan darah bertujuan untuk memperkaya media agar mendukung pertumbuhan bakteri yang sulit tumbuh pada media biasa. Selain itu, media ini membantu membedakan sifat bakteri, termasuk kemampuannya menghancurkan eritrosit (Krihariyani, Woelansari dan Kurniawan, 2016).

5. Pelarut media

a. Air kelapa

Pertumbuhan bakteri memerlukan suhu, pH, kadar air, aerasi dan agitasi sebagai faktor pertumbuhan dan memiliki kandungan nutrisi media yang kaya. Air kelapa mengandung senyawa – senyawa kimia

yang dibutuhkan mikroorganisme dalam pertumbuhannya (Mayaserly dan Renowati, 2015). Air kelapa tua memiliki kadar gula sebesar 3%, sedangkan air kelapa muda sekitar 5% (Syahfitri, dkk., 2022). Air kelapa kaya akan nutrisi, seperti gula, protein, dan lemak, yang mendukung pertumbuhan bakteri. Air kelapa mencakup 25% dari total komponen buah kelapa. Kelapa tua menghasilkan air yang lebih mendukung pertumbuhan bakteri dibandingkan kelapa muda. Kualitas produk berbasis air kelapa dipengaruhi oleh jenis kelapa, lokasi penanaman, serta usia panen (Wahyuni, 2018).

Tabel 2. Perbedaan Kandungan Air Kelapa Tua dan Kelapa Muda

Zat gizi	Air kelapa tua	Air kelapa muda
Kalori (K)	17,0	-
Protein (gram)	0,2	0,14
Lemak (gram)	1,0	1,50
Karbohidrat (gram)	3,8	4,60
Kalsium (mg)	15,0	-
Fosfor (mg)	8,0	0,50
Besi (mg)	0,2	-
Air (gram)	95,5	91,50

Sumber: Wahyuni, 2018.

Air kelapa tua memiliki nutrisi lebih baik dibandingkan dengan air kelapa muda. Selain itu air kelapa tua mengandung karbohidrat, gula, ion organik, vitamin, asam amino, dan asam organik (Merisya, 2014). Air kelapa yang digunakan sebagai pelarut media agar darah yaitu berasal dari kelapa tua. Air kelapa yang terlalu tua dan sudah bertunas mengandung minyak berlebih yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Namun pada air kelapa muda tidak dapat digunakan karena

kandungan mineralnya belum mencukupi sebagai nutrien pendukung pertumbuhan dan aktivitas bakteri.

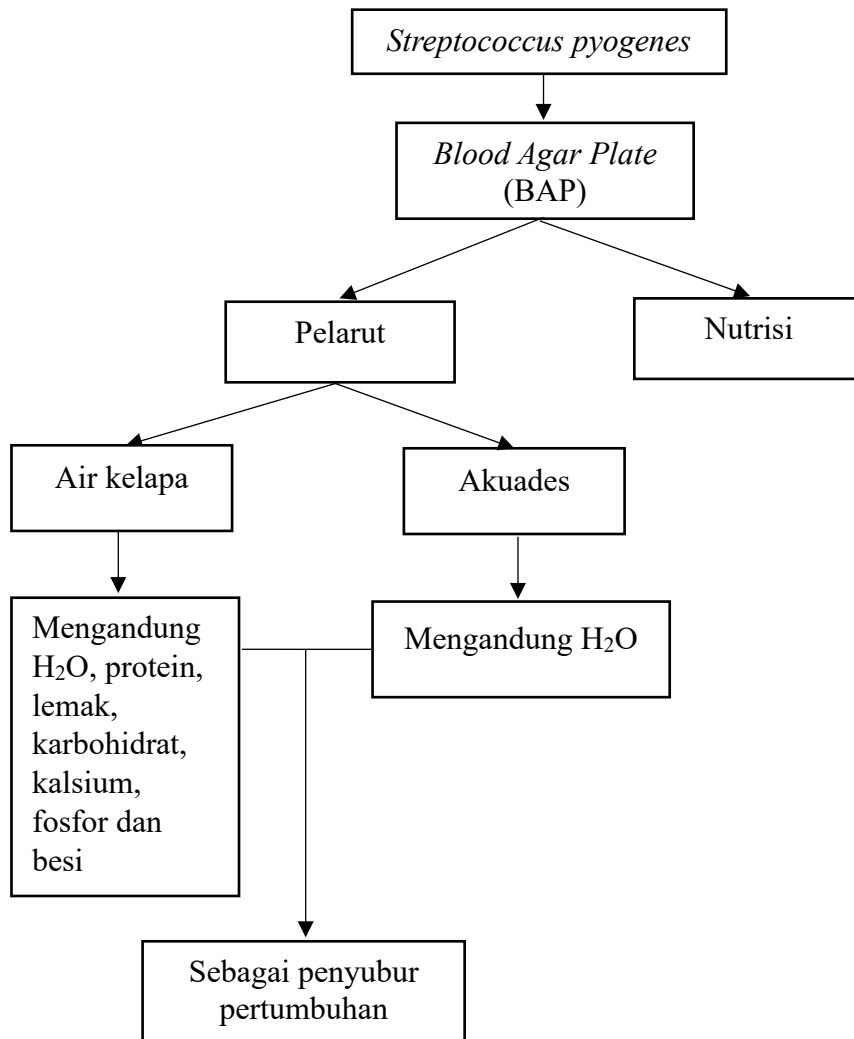
b. Akuades

Akuades merupakan air murni yang diperoleh melalui proses penyulingan (destilasi), yang bertujuan untuk memisahkan cairan murni dari cairan yang mengandung zat terlarut atau bercampur dengan cairan lain dengan titik didih berbeda. Proses ini melibatkan pemanasan cairan hingga menghasilkan uap, yang kemudian didinginkan menggunakan kondensor hingga kembali menjadi cairan yang disebut dengan destilat. Akuades adalah air hasil destilasi yang bebas dari zat pengotor, berwarna bening, tanpa bau, dan tidak berasa. Akuades sering digunakan di laboratorium untuk membersihkan peralatan dari kotoran serta sebagai pelarut unggul bagi senyawa organik netral dengan gugus polar, seperti gula, alkohol, aldehida, dan keton (Khotimah, Anggraeni dan Setianingsih, 2017).

Akuades digunakan sebagai pelarut pembanding pada air kelapa. Akuades bersifat netral dan tidak memiliki nutrisi tambahan seperti air kelapa. Pelarut media pada agar darah yaitu menggunakan aquades dengan ditambahkan darah domba sebagai pengkaya nutrisi untuk menumbuhkan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

B. Kerangka Teori

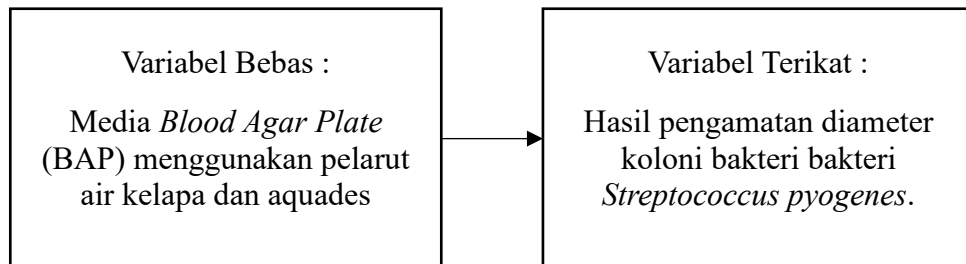
Kerangka teori ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan Antar Variabel.

D. Hipotesis

Bakteri *Streptococcus pyogenes* dapat tumbuh subur pada media BAP dengan pelarut air kelapa.