

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bakteri

a. Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan didefinisikan sebagai bertambahnya ukuran atau massa suatu organisme yang bersifat tidak dapat balik (irreversible). Pertumbuhan bakteri adalah peningkatan jumlah sel melalui proses pembelahan biner (*binary fission*), yaitu ketika satu sel memanjang dan membentuk sekat (septum) untuk menghasilkan dua sel anak yang identik (Madigan *et al.*, 2021). Pertumbuhan bakteri pada media padat dapat diamati melalui jumlah koloni, yang merepresentasikan satu atau sekelompok sel yang membelah dan dihitung sebagai *Colony Forming Units* (CFU) (Wicaksono *et al.*, 2019). Pertumbuhan koloni dipengaruhi oleh waktu generasi spesifik bakteri, ketersediaan nutrisi, serta akumulasi makromolekul selama inkubasi yang menentukan biomassa sel (Madigan *et al.*, 2021).

b. Kurva Pertumbuhan Bakteri (Madigan *et al.*, 2019).

1) Fase lag

Fase lag terjadi saat sel mikroba baru dipindahkan ke media segar. Pada fase ini, sel belum mulai membelah karena sedang menyesuaikan diri, mensintesis enzim, dan membuat metabolit yang diperlukan untuk pertumbuhan. Lama fase lag tergantung

pada kondisi sel, komposisi media, dan lingkungan pertumbuhan

2) Fase eksponensial (log)

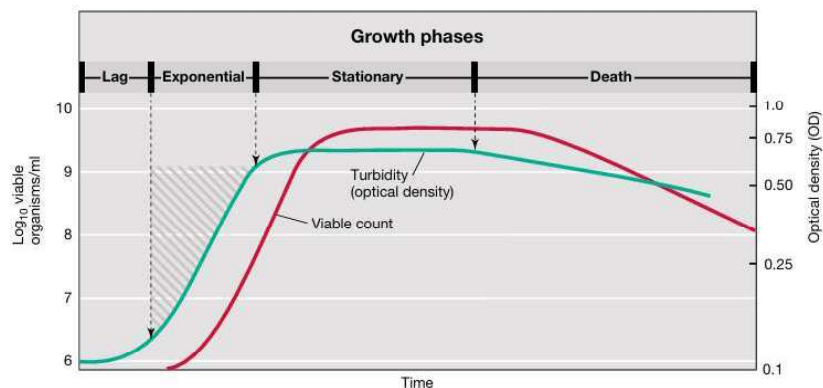
Setelah fase lag, sel mulai membelah secara teratur dan populasi meningkat dengan cepat. Sel berada dalam kondisi paling sehat, sehingga ideal untuk studi enzim dan komponen sel. Laju pertumbuhan dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan sifat genetik organisme. Waktu penggandaan bisa bervariasi, dari beberapa menit hingga berbulan-bulan tergantung jenis mikroba.

3) Fase stasioner

Pada fase stasioner, pertumbuhan berhenti karena nutrisi habis atau limbah menumpuk. Jumlah sel tetap, meskipun metabolisme masih berjalan lebih lambat. Beberapa sel mungkin masih membelah sementara yang lain mati, sehingga total populasi tetap stabil (pertumbuhan kriptik).

4) Fase kematian

Fase kematian ditandai dengan penurunan jumlah sel hidup. Laju kematian biasanya lebih lambat daripada laju pertumbuhan eksponensial. Beberapa sel dapat bertahan hidup berbulan-bulan atau bertahun-tahun.



Gambar .1 Kurva Pertumbuhan Bakteri
(Sumber : Madigan *et al.*, 2019)

2. *Klebsiella pneumoniae*

a. Deskripsi

Klebsiella pneumoniae merupakan salah satu bakteri *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini termasuk patogen oportunistik yang banyak dijumpai di lingkungan rumah sakit dan berkontribusi terhadap kurang lebih sepertiga kasus infeksi Gram-negatif. Selain itu, bakteri ini juga mampu menimbulkan berbagai infeksi ekstra-intestinal, misalnya sepsitemia dan endokarditis, bahkan dapat menyebabkan infeksi serius yang mengancam jiwa seperti pneumonia maupun syok septik (Asokan *et al.*, 2025).

Bakteri ini dapat dijumpai secara luas pada permukaan mukosa hewan maupun di berbagai lingkungan, termasuk air dan tanah. Pada manusia, *Klebsiella pneumoniae* terutama berkolonisasi di saluran pencernaan dan dalam jumlah lebih kecil di nasofaring. Dari lokasi tersebut, bakteri berpotensi masuk ke aliran darah atau menyebar ke

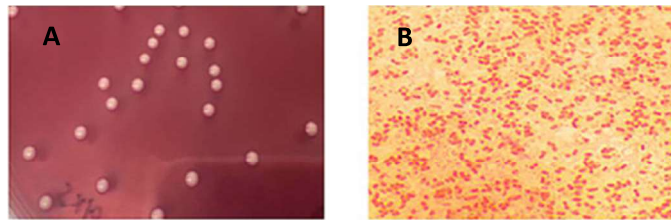
jaringan lain sehingga menimbulkan infeksi (Premandani *et al.*, 2023)

b. Klasifikasi dan Toksonomi (Ochońska & Brzychczy-Włoch (2024)

Domain : Bacteria
Phylum : Pseudomonadota
Class : Gammaproteobacteria
Order : Enterobacteriaceae
Family : Gammaproteobacteria
Genus : Klebsiella
Species : *Klebsiella pneumoniae*

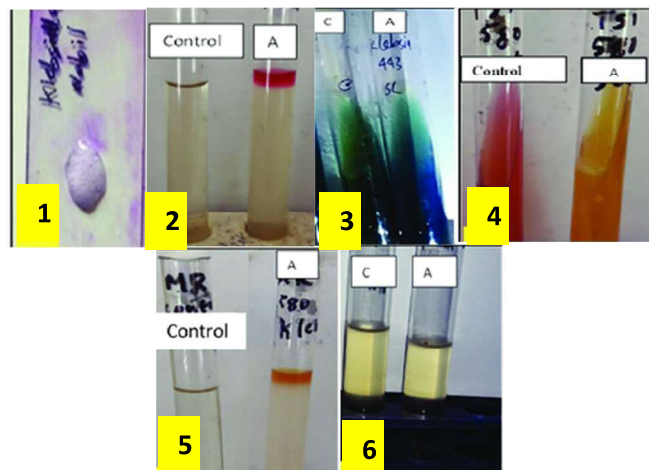
c. Karakteristik Morfologi, Sifat biokimia, dan Faktor Virulensi

Klebsiella pneumoniae memiliki sifat gram negatif, berbentuk batang, tidak memiliki kemampuan bergerak (non-motil), fakultatif anaerob, dan tidak menghasilkan spora (Khan *et al.*, 2023). Ukurannya bervariasi dengan lebar sekitar 0,3–2,0 µm dan panjang 0,6–6,0 µm, serta menampilkan koloni mukoid khas pada media agar. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C, tetapi mampu bertahan pada rentang suhu luas (12–42°C), bahkan memecah glukosa hingga 44,5°C yang mendukung kelangsungan hidup dan pembentukan biofilm (Ochońska & Brzychczy-Włoch., 2024).



Gambar 2. Morfologi koloni kultur (A) dan gambaran mikroskopis pewarnaan gram *K. pneumoniae* dengan lensa objektif 100x (B).
(Sumber : He *et al.*, 2022)

Secara biokimia, *K. pneumoniae* bersifat katalase-positif, indol-negatif, memfermentasi laktosa, menghasilkan urease dan lisin dekarboksilase, namun tidak menghasilkan ornitin dekarboksilase maupun oksidase.



Gambar 3. Identifikasi biokimia *K.pneumoniae* : (1) katalase + ; (2) VP + ; (3) Simmons sitrat +; (4) TSI A/A, H₂S-, Gas + ; (5) Indol - ; (6) MR test -
(Sumber: Salauddin *et al.*, 2019)

Bakteri ini memiliki berbagai faktor virulensi, antara lain kapsul, lipopolisakarida, fimbriae, serta siderofor. Selain itu, *K. pneumoniae* juga mampu memproduksi enzim *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) yang menyebabkan resistensi terhadap

banyak antibiotik, khususnya sefalosporin generasi ketiga dan monobaktam (Candra *et al*, 2022).

Dalam kultur, bakteri ini membentuk koloni mukoid, mengkilap, cembung, berwarna abu-abu putih. Pertumbuhannya dapat diamati pada media non-selektif (TSA, Blood Agar) maupun media selektif-diferensial, seperti MacConkey agar (koloni merah muda), EMB agar (koloni biru kehitaman), dan BTB agar (koloni kuning). Karakteristik ini mendukung identifikasi klinis *K. pneumoniae* sebagai patogen oportunistik penting (Ochońska & Brzychczy-Włoch., 2024).

d. Mekanisme Akuisisi Besi oleh *Klebsiella pneumoniae*

Siderofor merupakan strategi utama *K. pneumoniae* dalam memperoleh Fe^{3+} dari lingkungannya. Bakteri ini menghasilkan empat jenis utama: enterobactin, salmochelin, yersiniabactin, dan aerobactin. Molekul-molekul ini dilepaskan ke lingkungan untuk menangkap ion Fe^{3+} yang sangat terbatas ketersediaannya pada inang (Kumar *et al.*, 2024; Lan *et al.*, 2025).

Setelah dilepaskan, siderofor memiliki afinitas sangat tinggi terhadap Fe^{3+} dan membentuk kompleks Fe^{3+} -siderofor yang stabil (Holden *et al.*, 2018). Kompleks ini kemudian dikenali oleh reseptor spesifik di membran luar: FepA (enterobactin), IroN (salmochelin), FyuA (yersiniabactin), dan IutA (aerobactin). Transpor kompleks ke periplasma didukung oleh sistem energi TonB-ExbB-ExbD,

kemudian dilanjutkan ke sitoplasma melalui transporter membran dalam (Abbas et al., 2024; Lan et al., 2025).

Di dalam sel, Fe^{3+} dilepaskan dari kompleks melalui dua mekanisme: pertama, enzim esterase Fes memutus cincin siderofor (misalnya enterobactin), dan kedua, enzim reduktase mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Ion Fe^{2+} ini selanjutnya digunakan untuk membentuk Fe-S cluster ([2Fe-2S], [4Fe-4S]), yang menjadi kofaktor bagi berbagai enzim penting. Fe-S cluster berperan dalam respirasi dan transfer elektron (NADH dehydrogenase, succinate dehydrogenase, ferredoxin/ferredoxin reductase), metabolisme energi dan biosintesis (aconitase, fumarase tipe Fe-S), replikasi dan perbaikan DNA (DNA polymerase III, helicase, endonuclease III), serta perlindungan terhadap stres oksidatif melalui superoxide reductase dan Fe-SOD.

Kekurangan Fe menyebabkan penurunan aktivitas enzim, akumulasi ROS, kerusakan sel, melemahnya pertumbuhan, serta menurunnya virulensi (Holden et al., 2018; Lan et al., 2025). Sebaliknya, kecukupan Fe mendukung pembentukan kapsul polisakarida yang secara makroskopis memengaruhi morfologi koloni (Kumar et al., 2024).

Selain melalui mekanisme siderofor, *Klebsiella pneumoniae* juga memiliki jalur akuisisi besi non-siderofor untuk memastikan ketersediaan Fe intraseluler. Salah satu jalur utama adalah sistem

Feo (FeoABC), yang berfungsi sebagai transporter spesifik ion ferrous (Fe^{2+}) dan berperan penting pada kondisi anaerob atau lingkungan dengan pH rendah, ketika Fe^{2+} lebih stabil dan mudah diakses dibandingkan Fe^{3+} (Lan et al., 2025). Selain itu, sistem Sit (SitABCD) berperan dalam mengangkut Fe^{2+} dari periplasma ke sitoplasma, menjaga homeostasis Fe intraseluler, serta menyediakan Fe bagi enzim antioksidan sehingga meningkatkan toleransi bakteri terhadap stres oksidatif (Lan et al., 2025; Mekuli et al., 2025). *K. pneumoniae* juga memiliki sistem Kfu, yaitu mekanisme pengambilan Fe^{3+} dengan afinitas tinggi yang tidak bergantung pada siderofor, yang memberikan keuntungan efisiensi energi sehingga energi sel dapat lebih difokuskan pada proses pertumbuhan dan pembelahan sel (Abbas et al., 2024; Lan et al., 2025).

Akuisisi besi pada *K. pneumoniae* dikendalikan oleh regulator utama Fur (Ferric uptake regulator). Saat Fe berlimpah, Fur berikatan dengan Fe^{2+} dan menekan ekspresi gen siderofor untuk mencegah akumulasi Fe yang toksik. Sebaliknya, pada kondisi kekurangan Fe, Fur menjadi inaktif sehingga gen-gen akuisisi besi diekspresikan (Lan et al., 2025; Arnold., 2024).

Selain itu, regulasi diperkuat oleh RyhB, small RNA yang dikendalikan Fur. RyhB menurunkan ekspresi protein non-esensial yang membutuhkan Fe, sehingga ion Fe dapat diprioritaskan untuk proses vital seperti pembentukan Fe-S cluster, respirasi, dan sintesis

DNA (Hoffmann et al., 2025; Mekuli et al., 2025). Mekanisme regulasi ini menjaga keseimbangan antara kebutuhan metabolisme dan pencegahan toksisitas akibat kelebihan Fe.

3. Media Pertumbuhan Bakteri

a. Definisi

Media kultur adalah campuran nutrisi yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme. Media ini berfungsi sebagai *gold standard* dalam penegakan diagnosis pasti penyakit infeksi, serta dimanfaatkan untuk isolasi, pengujian sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganismec (Atmanto et al. 2022). Nutrisi dalam media, berupa molekul-molekul kecil, dimanfaatkan mikroba untuk menyusun komponen selnya. Tujuan utama penyusunan media adalah menyediakan keseimbangan nutrisi yang optimal sehingga mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik (Atmanto et al. 2022)

b. Persyaratan Media (Atmanto et al. 2022)

1) Sumber energi

Pertumbuhan bakteri pada media memerlukan energi yang diperoleh melalui oksidasi senyawa organik, seperti karbohidrat dan protein yang terdapat dalam media.

2) Sumber karbon (C)

Karbon dapat disuplai dari senyawa organik berupa protein maupun karbohidrat. Protein biasanya berasal dari ekstrak

daging atau pepton, sedangkan karbohidrat dapat berupa glukosa, laktosa, atau sukrosa

3) Sumber nitrogen (N)

Nitrogen yang dibutuhkan mikroorganisme dapat berasal dari senyawa anorganik maupun organik. Nitrogen anorganik biasanya disediakan dalam bentuk amonium nitrat (NH_4NO_3) atau amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), sedangkan nitrogen organik diperoleh dari protein, pepton, atau asam amino.

4) Garam mineral

Media harus mengandung garam mineral tertentu yang mendukung proses metabolisme mikroorganisme

5) pH

pH optimal untuk pertumbuhan antara pH 5–9. Jadi, meskipun organisme hidup di lingkungan sangat asam atau sangat basa, pH sitoplasma mereka tetap mendekati netral. Untuk mencegah perubahan pH saat mikroba tumbuh, buffer ditambahkan ke media kultur. Buffer menjaga pH tetap optimal agar enzim tetap aktif dan tidak rusak oleh ion H^+ atau OH^- selama reaksi. (Madigan *et al.*, 2019).

6) Oksigen

Oksigen (O_2) merupakan nutrisi esensial bagi banyak mikroba, tanpa adanya oksigen mereka tidak bisa bermetabolisme. Mikroorganisme memiliki kebutuhan berbeda

terhadap oksigen. kebutuhannya, seperti aerob yang membutuhkan oksigen penuh, mikroaerofil yang hanya toleran pada kadar rendah, fakultatif yang fleksibel, hingga anaerob yang tidak menggunakan oksigen, termasuk anaerob obligat yang mati bila terpapar oksigen (Madigan *et al.*, 2021).

7) Suhu optimal

Pertumbuhan mikroba memerlukan temperatur tertentu sesuai spesiesnya.

8) Tekanan osmotik

Media harus memiliki tekanan osmotik yang seimbang (isotonik) agar sel tidak mengalami lisis atau plasmolisis.

9) Faktor pertumbuhan tambahan

Beberapa mikroba membutuhkan faktor pertumbuhan khusus, seperti vitamin atau asam amino tertentu, agar dapat berkembang optimal.

c. Komponen media kultur (Atmanto *et al.* 2022)

1) Bahan dasar

a) Air (H₂O)

Diperlukan untuk menjaga kelembaban, melarutkan zat-zat dalam media, serta menunjang proses metabolisme dan pertukaran zat.

b) Agar

Berasal dari rumput laut, digunakan sebagai pematat media. Agar sulit didegradasi oleh mikroorganisme dan akan mencair pada suhu sekitar 45°C.

c) Gelatin

Memiliki fungsi serupa dengan agar karena merupakan polimer asam amino hasil degradasi kolagen. Kekurangannya, banyak mikroba mampu memecah gelatin, sehingga kurang stabil dibanding agar.

d) Silika gel

Terbuat dari natrium silikat, digunakan sebagai pematat khusus, terutama untuk media yang diperuntukkan bagi mikroorganisme autotrof obligat

2) Nutrisi

a) Sumber karbon & energi

bahan penyusun utama sel (glukosa, laktosa, sukrosa, lipid). Karbon juga menjadi sumber energi lewat oksidasi/fermentasi, sehingga pilihan sumber C memengaruhi laju pertumbuhan dan pola metabolik.

b) Sumber nitrogen

Berfungsi sebagai sintesis protein dan asam nukleat. Contoh sumber nitrogen berupa pepton, ekstrak daging,

asam amino, atau garam nitrogen anorganik (mis. amonium sulfat) tergantung kebutuhan mikroba.

c) Vitamin

Vitamin berfungsi sebagai aktivator enzim dan faktor pertumbuhan. Sebagian besar bakteri mampu mensintesis vitamin tertentu sendiri, namun dalam media sering ditambahkan vitamin yang esensial, seperti vitamin B kompleks, vitamin B6, dan vitamin C, untuk menunjang pertumbuhan optimal.

3) Bahan tambahan

- a) Phenol red sebagai indikator perubahan pH akibat pembentukan asam.
- b) Antibiotik untuk menghambat pertumbuhan mikroba kontaminan atau non-target.

d. Jenis-Jenis Media

Berdasarkan *Atmanto et al (2020)* jenis-jenis media pertumbuhan mikroba dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

1) Berdasarkan Bentuk

Media pertumbuhan mikroba dibedakan menjadi media padat, semi padat, dan cair. Media padat mengandung sekitar 1,5% agar dan digunakan untuk menumbuhkan serta mengamati koloni mikroba, seperti pada Nutrient Agar. Media semi padat mengandung 0,3–0,4% agar dengan tekstur kenyal dan

digunakan untuk memungkinkan penyebaran mikroba, membatasi difusi oksigen, serta menunjukkan pergerakan mikroba, misalnya pada media NfB semi padat. Media cair tidak mengandung bahan pematat dan digunakan untuk pertumbuhan mikroba dalam bentuk suspensi, seperti Nutrient Broth (NB) dan Luria Broth (LB)

2) Berdasarkan Komponen Kimia

Media pertumbuhan mikroba dibedakan menjadi media alami, semi-sintetis, dan sintetis. Media alami tersusun dari bahan alam dengan komposisi yang tidak pasti, seperti ekstrak kentang, daging, atau sayuran, contohnya *Tomato Juice Agar* dan *Brain Heart Infusion Agar*. Media semi-sintetis merupakan campuran bahan alami dan senyawa sintetis dengan komposisi yang sebagian diketahui, seperti Potato Dextrose Agar (PDA). Media sintetis tersusun dari senyawa kimia murni dengan jenis dan konsentrasi yang diketahui secara pasti, misalnya MacConkey Agar dan Glucose Agar.

3) Berdasarkan Fungsi

Media pertumbuhan mikroba dibedakan menjadi media basal, non selektif, selektif, diferensial, dan diperkaya. Media basal digunakan sebagai dasar pembuatan media lain dan mendukung pertumbuhan sebagian besar mikroba, seperti Nutrient Broth dan kaldu pepton. Media non selektif

memungkinkan pertumbuhan berbagai mikroba dengan cepat dan umumnya digunakan untuk perbanyakan sebelum identifikasi, contohnya *Brain Heart Infusion Broth* dan *Nutrient Agar*. Media selektif mengandung zat penghambat tertentu sehingga hanya mikroba tertentu yang dapat tumbuh. Media diferensial digunakan untuk membedakan mikroba berdasarkan karakter biokimia atau tampilan koloni, seperti pada Mannitol Salt Agar, MacConkey Agar, EMB Agar, HE Agar, XLD Agar, dan Blood Agar. Media diperkaya dirancang untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba tertentu, terutama yang jumlahnya sedikit dalam campuran, misalnya kaldu selenit, kaldu tetrionat, Chocolate Agar, dan Alkali Pepton Water

4. MacConkey Agar

MacConkey Agar (MCA) adalah media pertumbuhan selektif dan diferensial yang hanya menumbuhkan bakteri gram negatif kemudian mendiferensiasi berdasarkan metabolisme laktosanya, seperti *lactose fermenter* atau *non lactose fermenter* (Jung & Hoilat., 2024).

Prinsip kerja dari media MAC adalah bersifat selektivitas ketika *Crystal violet* dan garam empedu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, memungkinkan hanya bakteri gram negatif untuk tumbuh. Diferensiasi, yaitu Bakteri yang dapat memfermentasi laktosa menghasilkan asam, menurunkan pH media, dan menyebabkan perubahan warna indikator pH menjadi merah muda. Sebaliknya,

bakteri non-fermenter menghasilkan koloni berwarna putih atau transparan (Jung & Hoilat., 2024).



Gambar 4. (A). Koloni Morfologi koloni *Klebsiella pneumoniae* pada MacConkey Aga; Gambar (B). fenotipe hiper-mukovisitas (Sumber : Kudaer *et al.*,2023)

MacConkey Agar (MAC) berperan penting dalam identifikasi *K. pneumoniae* karena sifat selektif dan diferensialnya. Media ini memungkinkan pertumbuhan bakteri gram negatif sekaligus menghambat bakteri gram positif melalui *crystal violet* dan garam empedu. MacConkey agar yang diinkubasi pada 37°C selama 24 jam membentuk koloni besar, berwarna merah muda, bulat, bertekstur mukoid, dan tepi lurus, menunjukkan sifat fermentasi laktosa. Selain itu, koloni ditandai dengan ukuran besar, mukoid, berwarna putih hingga abu-abu, dan non-hemolitik, membedakannya dari spesies lain seperti *Serratia* yang menghasilkan hemolisis pada blood agar. Semua isolat *K. pneumoniae* positif pada *string test*, menunjukkan fenotipe *hypermucoviscosity* yang ditandai dengan koloni tunggal mampu membentuk string sepanjang ± 7 cm, mencerminkan produksi eksopolisakarida yang tinggi (Kudaer *et al.*, 2023).

5. Besi bagi Pertumbuhan Bakteri

a. Bentuk Kimiawi Besi

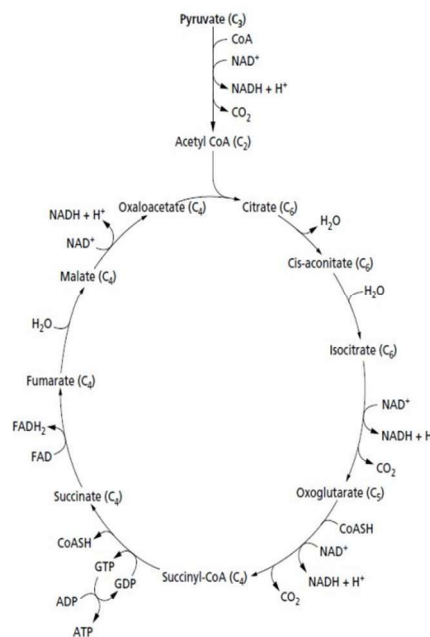
Secara kimiawi, besi (Fe) di lingkungan biologis umumnya berada dalam dua bentuk utama, yaitu ferrous (Fe^{2+}) yang tereduksi dan ferric (Fe^{3+}) yang teroksidasi. Ion Fe^{2+} bersifat lebih larut sehingga lebih mudah diambil dan dimanfaatkan oleh mikroba, sedangkan ion Fe^{3+} cenderung membentuk senyawa tidak larut, seperti $\text{Fe}(\text{OH})_3$ atau FeOOH , yang menyebabkan ketersediaan Fe di lingkungan menjadi terbatas (Madigan et al., 2021).

b. Peran Besi dalam Metabolisme Sentral dan Respirasi Sel

Seluruh enzim yang diperlukan dalam siklus TCA pada bakteri terletak di dalam sitoplasma karena bakteri tidak memiliki mitokondria. Pada langkah pertama, gugus asetil dari asetil-CoA berikatan dengan oksaloasetat untuk membentuk sitrat, yang kemudian diubah menjadi isositrat oleh enzim *aconitase*. Aktivitas enzimatis ini sangat bergantung pada keberadaan zat besi, karena *aconitase* mengandung gugus besi-sulfur [$4\text{Fe}-4\text{S}$] di mana reaksi katalitiknya melibatkan koordinasi langsung antara substrat dengan atom besi spesifik di dalam gugus tersebut (Tong, 2007).

Dalam satu putaran siklus yang berasal dari satu molekul piruvat, dihasilkan 3 molekul NADH, 1 molekul ATP/GTP, serta 1 molekul FADH_2 melalui aktivitas enzim *succinate dehydrogenase* yang juga merupakan protein kaya akan gugus

Fe-S. Secara umum, pemecahan sempurna satu molekul glukosa menghasilkan 8 molekul NADH dan 2 molekul $FADH_2$ yang dialirkan ke rantai transpor elektron untuk menghasilkan energi ATP melalui fosforilasi oksidatif guna mendukung proses pertumbuhan dan pembelahan sel (NCBI, 2026). Energi dan pembawa elektron yang dihasilkan melalui metabolisme sentral dan respirasi seluler tersebut menjadi prasyarat penting bagi berlangsungnya proses biosintesis makromolekul, termasuk sintesis DNA.



Gambar 5. Siklus asam trikarboksilat (TCA) pada bakteri
(Sumber : Nazar, 2017)

c. Peran Besi dalam Replikasi DNA sebagai Dasar Pembelahan Sel

Zat besi (Fe) memiliki peran vital di dalam sel, salah satunya melalui integrasi ke dalam protein untuk mendukung mekanisme

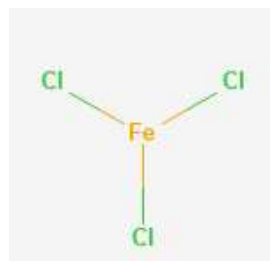
seluler esensial, seperti fungsi enzim ribonukleotida reduktase (RNR) (Cheryl et al., 2016). Fe sebagai kofaktor RNR mengkatalisis pembentukan *deoksinukleotida trifosfat* (dNTP) yang merupakan satu-satunya jalur untuk sintesis *de novo* dari blok pembangun monomerik untuk replikasi DNA dan perbaikan DNA (Zhang et al., 2014).

Ketersediaan dNTP yang memadai memungkinkan proses replikasi DNA berlangsung secara optimal, yang merupakan tahapan kunci dalam siklus sel bakteri. Replikasi DNA yang berjalan dengan baik berkontribusi pada koordinasi pemisahan kromosom serta pengaturan tahapan pembelahan sel berikutnya, termasuk pembentukan aparatus pembelahan seperti cincin FtsZ, sehingga sel bakteri dapat melanjutkan proses pembelahan secara normal (Haeusser & Levin, 2008).

d. FeCl₃ Sebagai Sumber Besi

Ferri klorida atau besi (III) klorida (FeCl₃) merupakan senyawa anorganik besi yang tersusun atas kation besi bermuatan tiga Fe³⁺ dan anion klorida Cl⁻ dalam bentuk anhidrat, senyawa ini memiliki berat molekul sebesar 162,20 g/mol (NCBI, 2026). Senyawa ini berwujud padatan berwarna oranye hingga hitam kecokelatan, bersifat non-kombustibel, serta berperan sebagai asam Lewis dalam reaksi kimia. Secara kimiawi, FeCl₃ bersifat sangat higroskopis dan mudah berikatan

dengan molekul air dari lingkungan, sehingga cenderung membentuk bentuk hidrat, khususnya ferri klorida heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) yang lebih stabil dan umum digunakan dalam aplikasi laboratorium (NCBI, 2026).

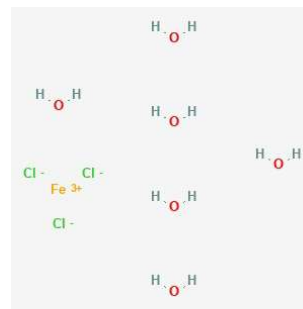


Gambar 6. Struktur kimia FeCl_3 (Sumber: NCBI, 2026)

Ferri klorida heksahidrat memiliki rumus molekul $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan berat molekul sebesar 270,29 g/mol (NCBI, 2026). Secara fisik, senyawa ini berbentuk padatan kristal berwarna kuning-kecokelatan yang bersifat sangat higroskopis dan mudah larut dalam air. Karakteristik ini memastikan distribusi ion besi yang optimal dan homogen saat diinkorporasikan ke dalam media kultur. Di bidang kesehatan, senyawa ini memiliki nilai fungsional sebagai agen terapeutik, khususnya sebagai astringen dan hemostatik yang bekerja melalui mekanisme presipitasi protein. Selain itu, aplikasinya juga mencakup pemurnian air untuk mendukung standar kesehatan lingkungan (NCBI, 2026).

Penambahan suplementasi besi $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ mampu menyediakan ion Fe^{3+} yang bersifat *bioavailable* bagi

mikroorganisme, termasuk *Klebsiella pneumoniae* (Lan et al., 2025). Secara biologis, ketersediaan Fe^{3+} yang terdisosiasi dari FeCl_3 memungkinkan sel bakteri mengalokasikan energi secara lebih fokus untuk proses proliferasi dan pembelahan sel dibandingkan untuk sintesis siderofor. Selain itu, anion klorida (Cl^-) yang dihasilkan bersifat inert sehingga tidak mengintervensi metabolisme bakteri secara langsung (Kumar et al., 2024; Abbas et al., 2024).



Gambar 7. Struktur kimia $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sumber: NCBI, 2026)

Berdasarkan *Laboratory Chemical Safety Summary* (LCSS), senyawa ini memiliki karakteristik kimia yang memerlukan penanganan terstandar. Mengingat sifat reaktivitas dan tingkat keasamannya, penggunaan alat pelindung diri seperti sarung tangan dan pelindung mata sangat dianjurkan untuk mencegah sensitivitas pada kulit maupun area mukosa. Melalui penerapan prosedur kerja laboratorium yang tepat, stabilitas senyawa dapat terjaga dengan baik sehingga efektif digunakan sebagai suplemen mikronutrien dalam penelitian mikrobiologi (NCBI, 2026).

6. Jumlah Koloni Sebagai Parameter Pertumbuhan

a. Konsep *Colony Forming Units* (CFU)

Metode standar emas yang banyak digunakan untuk menghitung jumlah sel hidup (*viabel*) dalam sampel mikrobiologi adalah penghitungan *Colony Forming Units* (CFU) pada cawan petri (Hazan *et al.*, 2012). Metode ini memiliki keunggulan pada kemampuannya untuk mengukur populasi bakteri dalam jumlah besar melalui teknik pengenceran, maupun populasi yang sangat sedikit melalui teknik konsentrasi (Hazan *et al.*, 2012). Penghitungan CFU melibatkan isolasi koloni bakteri yang tumbuh pada permukaan media agar guna menilai kemampuan sel awal untuk bertahan hidup dan bereplikasi hingga membentuk massa makroskopis (Jumutc *et al.*, 2023).

b. Metode *Spread Plate*

Metode *spread plate* dilakukan dengan meneteskan suspensi bakteri ke permukaan media agar yang telah memadat, kemudian meratakannya menggunakan batang penyebar steril. Keunggulan metode ini adalah seluruh koloni tumbuh di permukaan media, sehingga memudahkan pengamatan morfologi koloni dan penghitungan visual secara akurat (Damayanti *et al.*, 2020). Namun, metode ini memiliki keterbatasan teknis, terutama risiko kontaminasi selama proses perataan suspensi bakteri jika tidak dilakukan secara aseptik

(Dwidjoseputro, 2005 dalam Kurniawan *et al.*, 2023).



Gambar 8. Teknik spread plate (Sumber : Paripurana *et al.*, 2023)

c. Standar Validitas Perhitungan

Akurasi penghitungan *Colony Forming Units* (CFU) sangat bergantung pada pemilihan jumlah koloni yang representatif secara statistik. Kepadatan koloni yang terlalu tinggi (*Too Numerous To Count*, TNTC) dapat menyebabkan koloni saling tumpang tindih, sehingga asumsi bahwa satu koloni berasal dari satu unit viabel tunggal tidak lagi terpenuhi. Sebaliknya, jumlah koloni yang sangat rendah (*Too Few To Count*, TFTC) akan meningkatkan ketidakpastian statistik akibat fluktuasi sampling yang tinggi (Martini *et al.*, 2024).

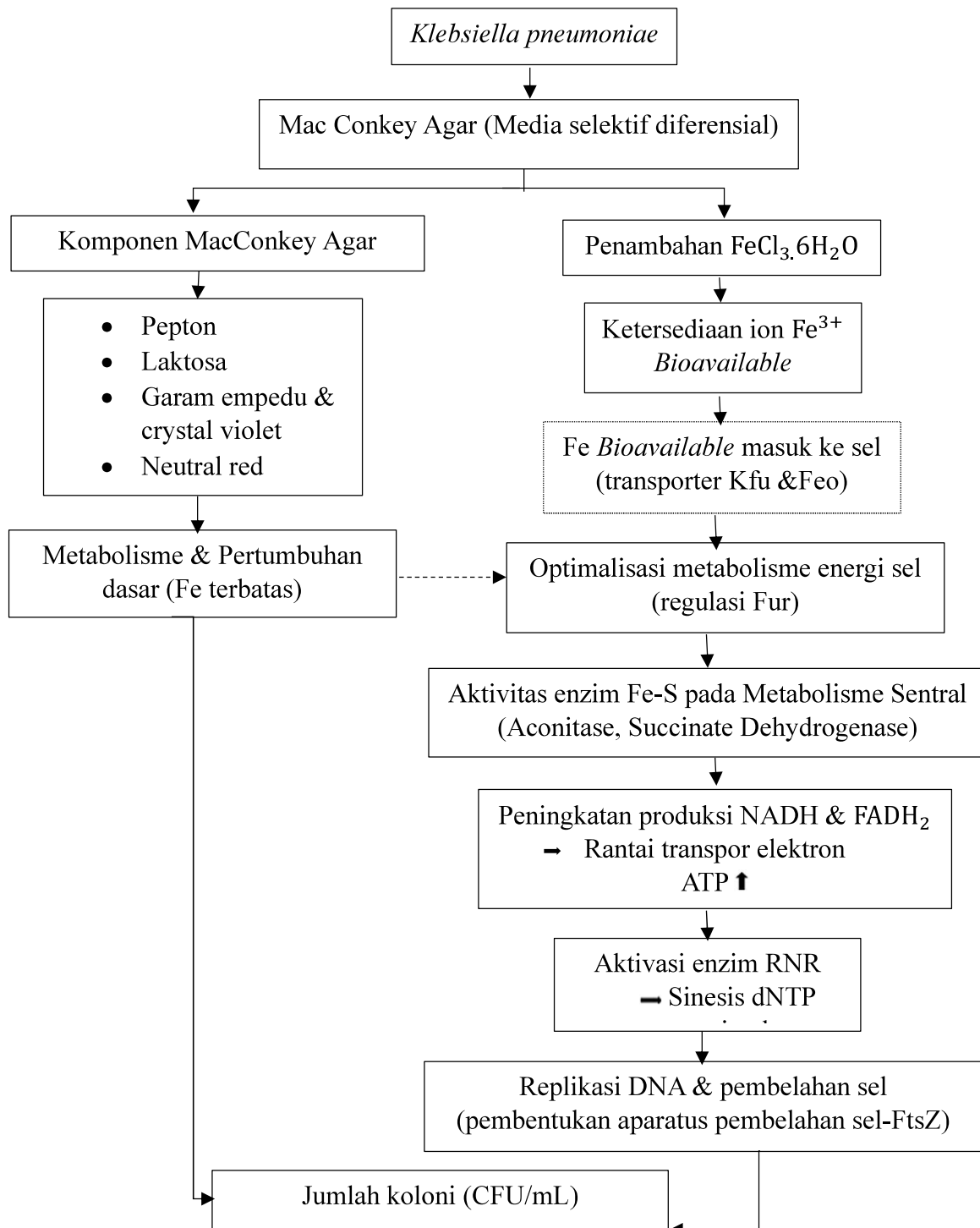
Pada metode hitung cawan menggunakan media selektif-diferensial seperti MacConkey Agar, ISO 7218:2024 menetapkan batas maksimum 150 *typical colony* pada cawan petri berdiameter 90 mm. Apabila tingkat bakteri dalam sampel berada di bawah ambang deteksi metode hitung cawan, yaitu <10 CFU/m, enumerasi tidak dapat dilakukan secara langsung tanpa tahap pemekatan terlebih dahulu (ISO 7218, 2024).

Berdasarkan kajian statistik mikrobiologi, penghitungan CFU secara kuantitatif paling andal dilakukan pada kisaran operasional sekitar 15–150 koloni per cawan, di mana jumlah koloni di bawah kisaran tersebut umumnya dilaporkan sebagai hasil estimasi, bukan nilai kuantitatif absolut (APHA, 2017; Martini *et al.*, 2024).

Untuk memperoleh jumlah koloni dalam kisaran yang dapat dihitung, dilakukan teknik pengenceran bertingkat (*serial dilution*), umumnya mulai dari 10^{-1} hingga 10^{-5} atau lebih, bergantung pada estimasi konsentrasi awal mikroorganisme dalam sampel (APHA, 2017; FDA, 2020). Hasil penghitungan koloni selanjutnya dikonversi menjadi CFU/mL menggunakan rumus standarisasi, yaitu dengan mengalikan jumlah koloni yang terhitung dengan faktor koreksi volume inokulum dan kebalikan dari faktor pengenceran, kemudian dilaporkan dengan pembulatan dua angka signifikan sesuai kaidah pelaporan kuantitatif internasional (Martini *et al.*, 2024; ISO 7218, 2024). Secara matematis, perhitungannya dinyatakan sebagai berikut:

$$\text{CFU/ml} = \frac{\text{Juml Koloni yang di hitung}}{\text{volume inokulum} \times \text{faktor pengenceran}}$$

B. Kerangka Teori



Gambar 9. Kerangka teori

Sumber: (Hauser & Levin, 2008; Lan et al., 2025; Zhang et al., 2014)

Keterangan : Diteliti
 Tidak diteliti

C. Hipotesis Penelitian

Terdapat pengaruh penambahan FeCl_3 pada media MacConkey Agar terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*.