

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Telaah Pustaka

##### 1. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

###### a. Deskripsi

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif, kokobasil dengan motilitas unipolar. *Pseudomonas aeruginosa* masuk dalam keluarga *Pseudomonadaceae* dan ditemukan hidup bebas di tanah, air, flora kulit, dan lingkungan buatan. Memiliki sifat aerob obligat. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit oportunistik pada hewan, manusia, dan tumbuhan. *Pseudomonas aeruginosa* disebut sebagai mikroorganisme pengguna hidrokarbon (*hydrocarbon-using microorganism-HUM bug*) yang dapat menyebabkan terbentuknya karat (*microbial corrosion*), dan bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 42°C dan pada minyak diesel (Soedarto, 2015). Bakteri ini pertama kali dilakukan isolasi oleh Gessard pada tahun 1882 dengan nanah warna hijau dan genus *Pseudomonas* dikenalkan pertama kali oleh Migula tahun 1894.

###### b. Klasifikasi

Menurut Soedarto (2015), klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria  
Phylum : Proteobacteria  
Class : Gamma Proteobacteria

Order : Pseudomonadales  
Family : Pseudomonadaceae  
Genus : Pseudomonas  
Species : *Pseudomonas aeruginosa*

c. Morfologi

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang masuk dalam kelompok bakteri Gram negatif dengan ukuran 0.5-0.8 mikron kali 1.5-3.0 mikron dan bakteri dengan bentuk batang. Sebagian besar strain bakteri ini dapat bergerak atau motil dengan satu flagel kutub atau *single polar flagellum*. Bakteri ini dapat hidup pada lingkungan dengan kondisi oksigen yang sangat minim atau tidak ada oksigen tetapi harus ada NO<sub>3</sub> sebagai electron pernapasan atau *respiratory electron acceptor* (Soedarto, 2015).

*Pseudomonas aeruginosa* ditemukan di dalam biofilm, melekat pada permukaan atau substrat, atau sebagai organisme uniselular yang berenang dengan aktif menggunakan flagel. Medium pertumbuhan bakteri ini terdiri dari asetat dan ammonium sulfat sebagai sumber karbon dan nitrogen. Pertumbuhan bakteri ini akan optimum pada suhu 37°C, dan tetap tumbuh pada suhu tinggi 42°C. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang tahan pada konsentrasi tinggi garam dan zat warna, antiseptik dan beberapa jenis antibiotik (Soedarto,2015).

*Pseudomonas aeruginosa* memiliki 3 kelompok ciri koloni. Koloni yang kecil dan kasar berasal dari isolate alami tanah dan air. Koloni dengan jumlah satu atau dua dan koloni halus berasal dari bahan klinik. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk seperti telur besar, halus, dan tepi datar. Sedangkan koloni yang berasal dari sekresi saluran pernapasan dan saluran kemih akan berbentuk mukoid atau berlendir. Strain bakteri ini membentuk dua tipe pigmen yaitu pigmen pyoverdin fluoresen berwarna hijau dan pigmen pyocyanin berwarna biru (Soedarto, 2015). Sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Sel Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Sumber: Micronotes, 2022

d. Patogenesis

*Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi karena peradangan atau sepsis. Pembentukan koloni bakteri ini pada beberapa organ seperti paru-paru, ginjal, dan saluran kemih dapat mengancam jiwa penderita.

Bakteri ini dapat tumbuh pada permukaan benda seperti alat-alat kedokteran kateter. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang menyebabkan beberapa infeksi yang didapatkan di rumah sakit. Bakteri ini merupakan bakteri patogen nosokomial oportunistik yang menginfeksi saluran paru, saluran kemih, luka bakar, dan luka terbuka. Bakteri ini memiliki biofilm sebagai pelindung, dan menyebabkan infeksi pada penderita dengan sistem imun yang lemah atau *immunocompromised* (Soedarto, 2015).

e. Toksisitas

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang menggunakan virulensi exotoksin A yang akan menyebabkan hambatan pada sintesis protein sehingga menyebabkan nekrosis. Exoenzym (ExoU) juga digunakan bakteri ini dalam proses perusakan membran plasma sel eukariotik dan menyebabkan lisis. Bakteri ini sulit diobati menggunakan antibiotik yang sering digunakan (Soedarto, 2015).

f. Identifikasi

*Pseudomonas aeruginosa* diidentifikasi dilaboratorium dengan metode kultur atau pembiakan pada media pertumbuhan, pewarnaan Gram, uji biokimia dan uji kepekaan terhadap antibiotik. *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat diidentifikasi dengan menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR) dengan amplikasi gen spesifik. Bakteri ini merupakan jenis bakteri aerob obligat yang dapat dengan mudah tumbuh pada berbagai jenis media (Scania dan Ningsih, 2023).

Isolasi dan identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* merupakan tahapan penting yang dilakukan dengan media pertumbuhan. Spesimen bakteri ini dapat diperoleh dari lesi kulit, nanah, urin, darah, cairan spinal, dahak, dan bahan lain dari infeksi. Koloni dari bakteri ini berbentuk bulat halus, bau manis seperti anggur atau jagung taco, dan beberapa strain bakteri ini dapat menghemolisis darah. Beberapa galur *Pseudomonas aeruginosa* memberikan pigmen hijau kebiruan atau disebut *pyocyanin*. Selain itu bakteri ini juga dapat menghasilkan pigmen kehijauan atau disebut *pyoverdine* pada media agar (Brooks dkk., 2013).

Tabel 1. Karakteristik Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

<b>Karakteristik</b>	<b>Hasil</b>
Kelompok bakteri	Gram negatif
Bentuk bakteri	Batang
Formasi	Tunggal
Ukuran koloni bakteri	Kecil hingga sedang
Warna koloni bakteri	Putih keabuan dengan pigmen biru atau kehijauan
Bentuk koloni bakteri	Bulat halus
Elevasi koloni bakteri	Cembung
Konsistensi koloni bakteri	Lembut
Tepi koloni bakteri	Rata
Bau koloni bakteri	Bau khas seperti anggur atau jagung

Sumber: Soedarto, 2015.

Koloni bakteri ini pada media MacConkey, berbentuk bulat, ukuran sedang, warna hijau, tepi sedang, elevasi cembung, konsistensi lembut dan koloni berwarna pucat yang berarti bakteri tidak meragi laktosa (Shafira, 2022). Pada media Nutrien agar (NA) koloni berbentuk bulat,

konsistensi halus licin, tepi sedang, permukaan basah atau berlendir, warna hijau atau biru dan menghasilkan pigmen biru-hijau. Bakteri ini menimbulkan bau khas seperti anggur atau jagung karena produksi 2-aminoasetofenon dari triptofan pada beberapa strain dan dapat membantu dalam konfirmasi kultur dan biakan (Goering dkk., 2019). Koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Koloni Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Media Nutrient Agar (NA)

Sumber: Micronotes, 2025

g. Kebutuhan Nutrisi

*Pseudomonas aeruginosa* membutuhkan nutrisi dalam pertumbuhannya agar optimal, nutrisi yang dibutuhkan bakteri ini antara lain adalah sumber karbon, nitrogen, unsur logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam, vitamin, air dan energi (Danela dkk., 2019). Selain itu bakteri *Pseudomonas aeruginosa* membutuhkan sumber karbon dan pepton sebagai sumber nitrogen seperti bahan yang terkandung dalam media Nutrient Broth (NB). Selain itu kandungan pepton, protein, dan

garam atau mineral juga mendukung pertumbuhan bakteri ini seperti pada media Brain Heart Infusion on Broth (BHIB) (Admi dkk., 2024).

## 2. Media Pertumbuhan Bakteri

### a. Deskripsi

Media merupakan substrat yang dibutuhkan mikroba untuk bertumbuh dan berkembang. Susunan bahan-bahan alami (toge, kentang, daging, telur, wortel, dan sebagainya) dan bahan-bahan buatan atau senyawa kimia organik atau anorganik yang digunakan mikroba untuk bertumbuh dan berkembang disebut dengan media (Suriawiria, 2011). Medium merupakan campuran yang didalamnya terkandung makronutrient, mikronutrient, unsur, faktor pertumbuhan, vitamin dan mineral yang mendukung pertumbuhan mikroba, medium merupakan faktor penting dalam isolate mikroba (Retnaningrum dkk., 2017).

### b. Sumber Nutrisi

Mikroba membutuhkan bahan makanan dalam kehidupan dan pertumbuhannya. Bahan-bahan organik dan anorganik yang digunakan sebagai bahan makanan tersebut disebut dengan nutrien, dan proses penyerapan nutrient disebut dengan nutrisi. Dalam kehidupan makhluk hidup termasuk mikroba sumber nutrien yang diperlukan adalah:

#### 1) Air

Air sebagai komponen utama pada media dan sel berfungsi sebagai sumber oksigen dalam bahan organis sel dan proses

respirasi, sebagai pelarut, dan sebagai pengangkut dalam proses metabolisme.

## 2) Sumber Energi

Sumber energi yang dapat digunakan dalam pertumbuhan mikroba adalah senyawa organik dan anorganik yang dapat dioksidasi, selain itu cahaya matahari juga dapat digunakan sebagai sumber energi.

## 3) Sumber karbon

Sumber karbon dalam pertumbuhan bakteri biasanya berbentuk hidrat arang, asam organik, garam organik, dan polialkohol.

## 4) Sumber Aseptor Elektron

Sumber aseptor elektron atau sumber yang dengan cepat menangkap elektron sel yang tidak dapat berada dalam bentuk bebas, yaitu  $O_2$ , senyawa organik,  $NO_3$ ,  $N_2$ ,  $N_2O$ ,  $SO_4^{3-}$ ,  $CO_2$ , dan  $Fe^{3+}$ .

## 5) Sumber Mineral

Sumber mineral atau unsur mineral merupakan sebuah bagian sel yang memiliki konstituen utama meliputi nitrogen, fosfor, oksigen, dan hidrogen. Selain sebagai komponen sel, mineral berfungsi sebagai pengatur osmosa, kadar ion hidrogen, permeabilitas dan tekanan oksidasi-reduksi medium. Unsur-unsur lainnya seperti K, Ca, Mg, Na, S, Cl, Fe, Mn, Co, Cu, Bo, Zn, Mo dan Al juga diperlukan dalam pertumbuhan mikroba.

#### 6) Faktor Pertumbuhan

Faktor pertumbuhan merupakan senyawa yang memiliki peran penting dalam pertumbuhan walaupun kadar yang terdapat didalamnya sangat sedikit. Contoh dari senyawa faktor pertumbuhan adalah vitamin dan asam amino.

#### 7) Sumber Nitrogen

Nitrogen merupakan sumber nutrisi mikroba yang berbentuk ammonium, nitrat, asam amino dan protein. Nitrogen bebas berbentuk gas seperti  $N_2$  dapat langsung digunakan oleh beberapa jenis mikroba (Suriawiria, 2011).

#### c. Syarat Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan yang baik sehingga dapat membuat mikroba bertumbuh dan berkembang maka harus memenuhi beberapa persyaratan tertentu, yaitu:

- 1) Terkandung semua jenis unsur hara yang dibutuhkan bakteri untuk tumbuh dan berkembang dalam media.
- 2) Media harus memenuhi kebutuhan tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai untuk mikroba.
- 3) Media yang akan digunakan harus dalam keadaan steril, dimana steril disini artinya tidak terdapat pertumbuhan mikroba lain yang tidak diharapkan tumbuh pada media, selain mikroba yang akan ditanam (Suriawiria, 2011).

#### d. Macam-macam Media

Media pertumbuhan bakteri dibedakan berdasarkan bentuk, susunan dan sifatnya, dimana hal ini didasarkan pada senyawa penyusun media, presentase campuran dan tujuan penggunaan media.

##### 1) Bentuk

Media pertumbuhan dibedakan berdasarkan bentuk ditentukan dari ada tidaknya penambahan zat padat pada media tersebut seperti agar atau gelatin, yang dibedakan menjadi 3 bentuk:

##### a) Media padat

Media padat merupakan media yang didalamnya terdapat 10 – 15 g tepung agar dalam 1.000 ml media. Tepung agar yang terdapat dalam media disesuaikan pada jenis dan kelompok mikroba, contohnya pada mikroba yang membutuhkan jumlah kadar air yang tinggi maka jumlah tepung agar yang ditambahkan harus rendah, tetapi terdapat beberapa mikroba yang membutuhkan kandungan air rendah sehingga tepung agar yang ditambahkan harus sedikit (Suriawiria, 2011).

##### b) Media cair

Media cair merupakan media yang didalamnya tidak terdapat kandungan zat pematat, media ini umum digunakan untuk pembiakan mikroba seperti bakteri dan ragi (Suriawiria, 2011).

c) Media semi padat atau semi cair

Media ini memiliki kandungan zat pematat sebanyak 50% atau kurang dari itu, media ini umum digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang memerlukan kandungan air dalam proses pertumbuhannya dan pada mikroba yang hidup secara anaerobik atau fakultatif (Suriawiria, 2011).

2) Susunan

Media pertumbuhan mikroba memiliki fungsi fisiologis dan komponen masing-masing, media pertumbuhan memiliki susunan isi yang sama. Isi kandungan dalam sebuah media, yaitu air, nitrogen, sumber energi, ion-ion baik dan faktor pertumbuhan. Berdasarkan kandungan dalam sebuah media tersebut, media dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu:

a) Media alami

Media alami merupakan media yang terbuat dari bahan alami seperti kentang, tepung, daging, telur, ikan dan umbi-umbian. Media alami yang sering digunakan dalam pertumbuhan mikroba adalah media bentuk kultur jaringan tanaman atau hewan (Suriawiria, 2011).

b) Media Sintetik

Media sintetik merupakan media yang tersusun dari senyawa kimia seperti media pertumbuhan bakteri *Clostridium*. Media Sintetik adalah media yang susunan kimia dan kadar dari media

tersebut telah diketahui secara pasti (Suryani dan Taupiqueeahman, 2021).

c) Media semi sintetik

Media ini merupakan media yang disusun dengan campuran bahan alami dan bahan sintetik, contohnya adalah kaldu nutrisi yang didalamnya terkandung pepton 10,0 g, ekstrak daging 10,0, NaCl 5,0 dan akuades 1,000 ml. Media semi sintetik biadanya dibuat dengan ekstraksi bahan dengan direbus atau dalam bentuk gilingan (Suriawiria, 2011).

3) Sifat

Media bukan hanya digunakan dengan tujuan pertumbuhan dan perkembangbiakan media, akan tetapi terdapat tujuan lain seperti isolasi, seleksi, evaluasi, dan diferensiasi biakan. Sehingga banyak dilakukan pencampuran beberapa jenis zat yang digunakan dalam media yang memiliki pengaruh pada pertumbuhan mikroba. Sehingga masing-masing media memiliki sifat atau spesifikasi masing-masing. Berdasarkan sifatnya media dibagi menjadi lima, yaitu:

a) Media umum

Media umum adalah media yang dapat digunakan untuk pertumbuhan satu atau dua mikroba secara umum, seperti media agar kaldu nutrisi untuk pertumbuhan bakteri (Suriawiria, 2011).

b) Media diperkaya

Media ini diperkaya merupakan media yang dibuat dengan penambahan suatu zat tertentu dengan maksud zat tersebut adalah nutrisi spesifik untuk jenis mikroba yang ditumbuhkan. Media ini digunakan dalam pembuatan kultur diperkaya dan isolasi mikroba spesifik (Suryani dan Taupiqueehman, 2021). Media diperkaya merupakan media yang telah ditambahkan bahan bernutrisi didalamnya seperti darah atau serum (Cappuccino dan Sherman, 2014).

c) Media selektif

Media selektif merupakan media yang digunakan untuk pertumbuhan dan isolasi bakteri spesifik. Pada media selektif terdapat zat kimia penghambat pertumbuhan satu jenis bakteri dan memberikan peluang pertumbuhan bakteri lain, sehingga mempermudah identifikasi. Contohnya adalah agar feniletil alkohol dan agar NaCl 7,5% (Cappuccino dan Sherman, 2014).

d) Media diferensiasi

Media diferensiasi dapat menumbuhkan mikroba tertentu yang ditentukan berdasarkan morfologi dan biokimia atau sifatnya. Media ini mengandung zat kimia yang menghasilkan perubahan karakteristik pada tampilan koloni bakteri yang tumbuh setelah dilakukan inokulasi dan inkubasi. Contohnya

adalah Agar MacConkey yang menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (Cappuccino dan Sherman, 2014).

e) Media penguji

Media ini digunakan untuk menguji suatu senyawa atau benda dengan menggunakan mikroba. Contohnya adalah media penguji vitamin, asam amino dan antibiotika (Suriawiria, 2011).

f) Media enumerasi

Media enumerasi merupakan media yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroba, media ini dapat berbentuk media umum, media selektif atau media diferensiasi (Suriawiria, 2011).

e. Komposisi Media

Media pertumbuhan mikroba memiliki komposisi yang terdiri dari zat-zat organik seperti ekstrak daging, sayur-sayuran, sisa-sisa makanan atau ramuan-ramuan yang dibuat oleh manusia dalam menumbuhkan bakteri (Dwijoseputro, 2010). Selain itu media pertumbuhan bakteri juga mengandung pepton dan agar (Atlas, 2010). Dan bahan-bahan yang sering digunakan dalam pembuatan media adalah Air, pepton, ekstrak daging, ekstrak ragi, elektrolit, agar, senyawa fermentasi, dan buffer (Atmanto, 2022).

1) Ekstrak daging

Ekstrak daging mengandung asam amino, karbohidrat, vitamin dan mineral yang dibutuhkan dalam sebuah media. Ekstrak daging mengandung produk degradasi protein, karbohidrat, garam

anorganik, enzim, faktor perangsang dan faktor diperkaya dalam vitamin B kompleks (Atmanto, 2022).

## 2) Pepton

Pepton dapat diperoleh dari daging, fibrin kasein dan tepung kedelai. Pepton mengandung zat-zat nitrogen yang berguna sebagai larutan peyangga. Zat yang terdapat dalam pepton adalah proteosa, polipeptida dan asam-asam amino (Gupte, 1990).

## 3) Ekstrak ragi

Ekstrak ragi memiliki kandungan protein, asam amino, faktor pertumbuhan atau vitamin B, karbohidrat, potasium dan fosfat yang membantu dalam pertumbuhan bakteri (Atmanto, 2022). Ekstrak ragi diperoleh dengan cara mengekstraksikan ragi yang ditolisiskan dengan air (Gupte, 1990).

## 4) Agar

Agar terbuat dari ganggang merah, kandungan agar pada media yang digunakan sebagai pematat adalah sekitar 1.5 - 2%. Agar digunakan sebagai pematat pada media padat atau semi padat. Mikroba sulit mendegradasi agar dan akan membeku pada suhu diatas 45°C (Atmanto, 2022).

## 5) Senyawa fermentasi

Senyawa fermentasi seperti gula dan alcohol digunakan untuk sumber energi. Reaksi fermentasi yang ditimbulkan dapat digunakan dalam identifikasi dan klasifikasi organisme (Atmanto, 2022).

### 3. Pertumbuhan Bakteri

#### a. Deskripsi

Pertumbuhan adalah suatu proses berkembangnya organisme meliputi ukuran, substansi atau masa zatnya. Pertumbuhan pada organisme bersel satu merupakan definisi dari bertumbuhnya koloni mulai dari bertambahnya jumlah koloni, ukuran koloni, dan semakin banyak massa mikroba yang ada pada koloni. Pertumbuhan mikroba merupakan bertambahnya jumlah sel mikroba, sedangkan koloni merupakan kelompok beberapa mikroba yang memiliki sifat yang sama seperti bentuk dan susunan permukaan yang sama (Rini dan Rohmah, 2020).

Pertumbuhan merupakan proses teratur penambahan komponen sel. Pada organisme bersel satu (uniseluler), proses pertumbuhan merupakan perbanyakkan sel dengan penambahan jumlah. Pada bakteri sel akan mengalami penambahan jumlah sel bakteri sendiri. Bakteri akan mengalami perbanyakkan diri pada saat diinokulum pada medium baru dengan kebutuhan yang sesuai (Suryani dan Taupiqueeahman, 2021).

#### b. Faktor Pertumbuhan

Lingkungan merupakan faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba seperti bakteri. Morfologi dan fisiologi bakteri dapat berpengaruh akibat lingkungan. Faktor yang mempengaruhi mikroorganisme yaitu faktor biotik dan abiotik. Lingkungan biotik menyangkut adanya organisme lain dalam lingkungan hidup organisme,

sedangkan faktor abiotik merupakan jumlah senyawa dan susunan yang dibutuhkan untuk media kultur, lingkungan fisik, senyawa toksik, dan penghambat yang dihasilkan sendiri atau dari lingkungan (Rini dan Rohmah, 2020).

### 1.) Fisik

#### a.) Suhu atau Temperatur

Suhu merupakan faktor lingkungan yang sangat berpengaruh pada pertumbuhan bakteri, pertumbuhan bakteri bergantung pada suhu yang mempengaruhi enzim seluler. Bakteri dapat tumbuh pada rentang suhu  $-5^{\circ}\text{C}$  -  $80^{\circ}\text{C}$ . Akan tetapi, masing-masing bakteri membutuhkan suhu optimum sendiri dalam pertumbuhannya. Terdapat tidak kelompok bakteri yang didasarkan pada kebutuhan suhunya yaitu, Psikrofilik, Mesofil, dan Termofil (Cappuccino dan Sherman, 2014).

Tabel 2. Jenis Bakteri Berdasarkan Suhu

<b>Jenis Bakteri</b>	<b>Suhu Pertumbuhan</b>	<b>Suhu Optimum</b>
Psikofilik	$-5 - 30^{\circ}\text{C}$	$10 - 20^{\circ}\text{C}$
Mesofilik	$10 - 45^{\circ}\text{C}$	$20 - 40^{\circ}\text{C}$
Termofilik	$25 - 80^{\circ}\text{C}$	$50 - 60^{\circ}\text{C}$

Sumber: Brooks dkk., 2013.

#### b.) pH

pH lingkungan memiliki peranan dan pengaruh dalam pertumbuhan bakteri, masing-masing bakteri memiliki kebutuhan pH yang berbeda. Didasarkan pada pH optimum dalam pertumbuhannya, bakteri dikelompokkan menjadi tiga

yaitu, asidofilik, neutrofilik dan alkalifilik (Cappuccino dan Sherman, 2014). Asidofilik dengan pH dibawah 2 - 5,5, neutrofilik dengan rentang pH 6,5 – 7,5 dan alkalifilik dengan rentang pH 8,5 – 9,0.

c.) Tekanan Osmotik

Tekanan osmotik memiliki dampak bagi pertumbuhan bakteri, tekanan hipertonis atau tekanan besar lingkungan akan membuat sel mengalami plasmosis, sedangkan apabila tekanan lingkungan hipotonis akan menyebabkan sel bengkak dan rusak. Plasmosis merupakan proses pelepasan cairan pada bakteri yang melintasi membrane sitoplasma (Hamdiyati, 2011 dalam Yunita dkk., 2023).

d.) Kebutuhan Oksigen

Mikroorganisme melakukan proses respirasi seluler dengan menggunakan oksigen bebas ( $O_2$ ), masing-masing bakteri memiliki perbedaan kemampuan dalam menggunakan oksigen disekitarnya. Hal tersebut menandakan adanya perbedaan sistem enzim biooksidatif pada spesies bakteri yang berbeda. Berdasarkan kebutuhan oksigennya dikelompokkan menjadi lima yaitu, Aerob, Mikroaerofil, Aerob obligat, Anaerob aerotoleran dan Anaerob (Cappuccino dan Sherman, 2014).

## 2.) Kimia

### a.) Nutrisi

Mikroorganisme selain membutuhkan faktor fisik dalam pertumbuhannya, juga membutuhkan nutrisi-nutrisi dasar. Kebutuhan nutrisi dalam kehidupan memiliki kesamaan berupa bahan kimia. Bakteri membutuhkan nutrisi yang cukup untuk perkembangannya seperti karbon, nitrogen, unsur non-logam, unsur logam, vitamin, air dan energi (Cappuccino dan Sherman, 2014).

### b.) Media Kultur

Media kultur terdiri dari senyawa-senyawa organik atau anorganik spesifik murni. Media kultur yang digunakan untuk bakteri disesuaikan akan kebutuhan bakteri. Media kultur berisi nutrisi yang membantu perkembangan bakteri. Terdapat dua macam bakteri didasarkan pada konsistensinya yaitu media cair dan media padat, sedangkan berdasarkan nutrisi yang terkandung didalamnya dikelompokkan menjadi defined media, media kompleks, media umum, media penyubur, media selektif, media diferensial, dan media khusus (Yunita dkk., 2023).

### c. Fase Pertumbuhan

Bakteri yang dimasukkan ke dalam sebuah medium kultur akan dipengaruhi pertumbuhan dan multiplikasinya oleh berbagai faktor. Pertumbuhan maksimal bakteri akan terjadi apabila medium kultur yang

digunakan dalam kondisi optimal untuk kehidupan bakteri (Soedarto, 2015).

Terdapat empat kurva utama dalam pertumbuhan bakteri yakni fase lag (fase lambat atau fase tertinggal), fase pertumbuhan eksponensial (fase pertumbuhan cepat atau fase logaritmatik), fase stasioner dan fase penurunan populasi (fase kematian). Fase-fase ini pada media pengembangbiakan menunjukkan kondisi bakteri, dan fase-fase ini memiliki masa pergantian sebelum seluruh sel memasuki fase baru (Hamdiyati, 2011).

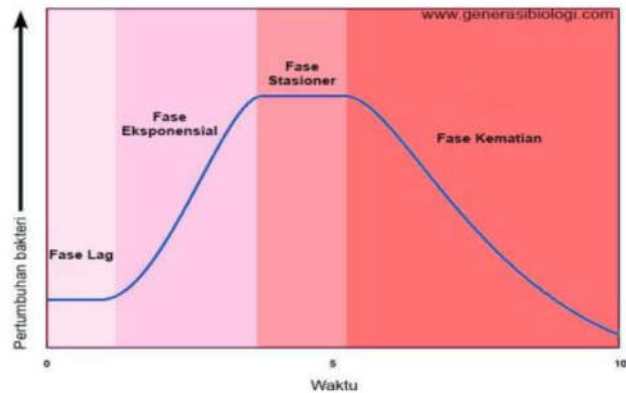
Fase lag adalah pada saat bakteri menyesuaikan dengan lingkungan tumbuhnya dan melakukan persiapan untuk memperbanyak diri, pada fase ini bakteri akan mengalami peningkatan ukuran tetapi penambahan jumlahnya sedikit (Hamdiyati, 2011).

Fase eksponensial atau fase tumbuh dipercepat, pada fase ini bakteri akan bertumbuh dengan pesat. Sel bakteri akan membelah menjadi dua yang dipengaruhi oleh karakteristik turunan. Dalam fase ini pertumbuhan sel setara, karena massa dan jumlah sel meningkat dipengaruhi oleh faktor yang sama, susunan sel dan konsentrasi metabolit yang relatif seimbang (Hamdiyati, 2011)

Fase stasioner merupakan fase dimana percepatan perkembangan yang terjadi pada bakteri sama dengan percepatan jumlah bakteri yang mati. Keseimbangan ini terjadi akibat penurunan pembelahan sel karena terjadi pembelahan sel yang terhambat yang disebabkan penurunan

nutrisi dan terdapat akumulasi produk beracun. Tetapi walaupun seimbang, fase ini akan mengarah pada periode penurunan populasi atau kematian sel (Hamdiyati, 2011).

Fase kematian terjadi apabila jumlah kematian bakteri mengalami peningkatan melebihi bakteri yang mengalami pertumbuhan. Kekurangan nutrisi dan penumpukan produk toksik yang berasal dari bakteri menyebabkan banyaknya kematian bakteri dan penurunan pertumbuhan bakteri secara cepat (Hamdayati, 2011). Kurva pertumbuhan bakteri ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sumber: Tamam, 2016

#### d. Metode Penanaman Bakteri

##### 1) *Spread Plate Method* atau Metode Cawan Sebar

Metode ini digunakan untuk mengisolasi koloni dengan cara memisahkan mikroba yang berasal dari campuran encer. Teknik ini dilakukan dengan memindahkan sebagian kecil campuran mikroba ke cawan petri yang telah berisi agar. Koloni kemudian disebar

dengan *spreader* steril. Akan terjadi endapan mikroba pada permukaan agar. Kemudian dilakukan inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Mikroba yang telah disebar akan berkembang menjadi koloni, jumlah koloni sama dengan jumlah organisme yang hidup sehingga dapat dihitung mikroba yang tumbuh pada cawan (Najmah dkk., 2024).

## 2) *Streak Plate Method* atau Metode Cawan Gores

Metode cawan goeres merupakan metode yang menggunakan jarum ose steril yang dimasukkan dalam suspensi mikroba yang kemudian digoreskan pada atas agar padat, teknik ini dilakukan dengan membuat goresan zig-zag pada permukaan agar dan goresan yang dibentuk tidak bertumpuk. Metode ini dilakukan untuk mendapatkan koloni bakteri terpisah dan mendapatkan jumlah koloni mikroba yang banyak pada media. Metode cawan gores dibagi menjadi tiga tipe, yaitu tipe goresan sinambung, tipe goresan huruf T dan tipe goresan kuadran (Najmah dkk., 2024).

## 3) *Pour Plate Method* atau Metode Cawan Tuang

Metode ini merupakan metode kultur mikroba yang dilakukan dengan menambahkan sampel cair dan mikroba hidup secara bersama sebelum terjadi pembekuan media yang kemudian dilakukan isolasi dan perhitungan. Metode ini digunakan untuk perhitungan mikroba hidup dengan menghitung jumlah unit pembentuk koloni atau CFU. Pada teknik ini dilakukan pengenceran

bertahap agar kandungan mikroba dalam sampel berada pada 20 dan 300 CFU/ml (Najmah dkk., 2024).

Tujuan dilakukan metode ini adalah agar mikroorganisme pada sampel cairan dapat diisolasi, perhitungan mikroorganisme dengan menghitung unit pembentuk koloni, mengisolasi kultur murni mikroba dari campuran dan pengamatan koloni pada isolasi koloni terpisah (Najmah dkk., 2024).

#### 4. Media Diperkaya (*enrichment*)

Media diperkaya merupakan media yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme tertentu, media ini memiliki konstituen nutrisi yang mendorong pertumbuhan mikroba tertentu. Media ini merupakan media yang ditambahkan bahan-bahan tertentu untuk mendorong pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Media diperkaya merupakan media yang memiliki kandungan dasar untuk pertumbuhan mikroba dan ditambahkan dengan komponen kompleks, seperti darah, serum, ekstrak ragi, ekstrak jaringan dan kuning telur (Atmanto., dkk., 2022).

Media diperkaya atau enrichment media yang tersusun atas media dasar seperti Nutrient Agar (NA), Tryptic Soy Agar, atau Brain Heart Infusion yang mengandung sumber karbon, nitrogen, mineral, air, dan agar yang kemudian diperkaya dengan zat tambahan seperti darah, serum atau yeast ekstrak yang berfungsi menyediakan faktor pertumbuhan esensial seperti vitamin, asam amino, heme, dan koenzim. Penambahan bahan pada media

ini dapat meningkatkan kualitas dan kecepatan pertumbuhan mikroorganisme tertentu (Cappuccino dan Sherman, 2014).

#### 5. Angka Lempeng Total (ALT)

Angka lempeng total atau ALT merupakan metode yang berguna untuk menentukan jumlah total mikroorganisme yang terdapat pada suatu sampel, pengukuran dilakukan dengan menghitung jumlah bakteri yang tumbuh pada media pertumbuhan bakteri. ALT merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme hidup dalam suatu sampel dengan cara menumbuhkan mikroba pada media padat dan menghitung koloni yang tumbuh. ALT dinyatakan dalam satuan *Colony Forming Unit* atau CFU, setiap koloni yang tumbuh pada media agar diasumsikan berasal dari satu sel atau satu kelompok sel mikroorganismenya (Puspitasari dkk., 2022).

*Colony Forming Unit* atau CFU menunjukkan jumlah koloni yang tumbuh tiap gram atau milimeter sampel yang dihitung dari jumlah cawan, faktor pengenceran, dan volume yang digunakan. Dalam mikrobiologi CFU merupakan metode yang digunakan untuk memperkirakan jumlah bakteri yang hidup dalam sebuah sampel. Angka Lempeng Total atau ALT dilakukan dengan pengenceran sampel secara bertingkat, ditumbuhkan pada media agar pertumbuhan bakteri, dan dihitung jumlah koloni yang merupakan jumlah CFU (Mutiara dan Irdawati, 2023). Berdasarkan (A'yunin dkk., 2025) rumus dari perhitungan *Colony Forming Unit* atau CFU adalah sebagai berikut:

$$\text{CFU/mL} = \frac{\text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{Volume Sampel yang Ditanam (mL)}}$$

## 6. Media Nutrient Agar

### a. Deskripsi

Media NA atau Nutrient agar merupakan media dengan bentuk serbuk putih kekuningan. Didasarkan kegunaan media ini merupakan media universal karena media ini umum digunakan untuk menumbuhkan sebagian besar jenis bakteri. Media NA atau Nutrient agar merupakan media yang sering digunakan untuk menumbuhkan bakteri di laboratorium. NA termasuk dalam media sintesis yang mengandung ekstrak daging 3 gram, pepton 5 gram dan agar 15 gram. Nutrient agar merupakan media dengan bentuk padat, media ini dibuat dengan campuran ekstrak daging, pepton, dan juga agar sebagai pematat. Didasarkan pada kegunaannya media Nutrient agar merupakan media umum yang digunakan sebagai media pertumbuhan sebagian besar bakteri. Media ini biasanya digunakan untuk mengamati morfologi koloni bakteri (Munandar, 2016 dalam Rinihapsari, dkk., 2023).

Media Nutrient Agar atau NA merupakan media kompleks yang memiliki kandungan tinggi nutrisi berupa ekstrak daging, ekstrak ragi atau tumbuh-tumbuhan dan protein sederhana dari sumber lain dalam membantu pertumbuhan dan perkembangan bakteri. Media ini juga dapat digunakan sebagai media budidaya bakteri dan isolasi biakan murni. Bakteri yang tumbuh pada media ini biasanya merupakan bakteri

nonfastidious dan tidak diperlukan suplemen khusus dalam pertumbuhannya (Radji, 2010).

b. Komposisi

Media Nutrient Agar (NA) terbuat dari 5.0 gram pepton, 3.0 gram ekstrak sapi dalam 1000 ml air suling dan biasanya ditambahkan agar sebagai pematat media (Cappuccino dan Sherman, 2014). Media Nutrient Agar (NA) merupakan media yang terbuat dari campuran ekstrak daging dan pepton yang ditambahkan agar untuk memadatkan media. Ekstrak daging dan pepton merupakan bahan dasar yang dibutuhkan bagi pertumbuhan mikroba dan merupakan bahan dasar media ini sebagai sumber protein, nitrogen, vitamin dan karbohidrat. Pada media ini juga ditambahkan agar sebagai pematat karena sifat agar yang mudah membeku dan memiliki kandungan karbohidrat berupa galaktam yang tidak mudah diuraikan mikroorganisme (Fatmazira, 2017 dalam Rinihapsari dkk., 2023).

7. Infusa

a. Deskripsi

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Infusa dibuat dengan cara mencampur simplisia yang sudah dihaluskan menggunakan air, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit terhitung setelah suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk (Kemenkes RI 2017 dalam Ilyas dkk., 2024). Setelah dilakukan

pemanasan selama 15 menit, kemudian dilakukan penyarian. Proses penyarian ini merupakan proses pemindahan zat yang semula berada dalam sel ditarik oleh cairan penyari atau pelarut, sehingga menyebabkan zat akan larut dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan untuk pembuatan infusa adalah air atau akuades (Direktorat Jendral Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2017 dalam Rohmah dkk., 2021).

## 8. Kacang Kedelai

### a. Deskripsi

Kedelai merupakan tanaman pangan yang masuk dalam jenis kacang-kacangan yang biasa diolah menjadi berbagai pangan olahan. Kacang kedelai disebut dengan julukan *gold from the soil* atau emas yang muncul dari tanah karena kedelai mengandung protein, lemak dan vitamin. Kedelai yang umum dibudidayakan adalah spesies *Glycine max* atau keledai warna putih kekuningan dan *Glycine soya* atau kedelai warna hitam (Safitry dkk., 2021).

Kacang kedelai masuk dalam family *Leguminoseae* atau kacang-kacangan dengan kandungan gizi yang banyak. Kacang kedelai juga merupakan sumber serat, sumber protein nabati dan lestin. Selain itu kacang kedelai juga merupakan sumber vitamin A, B kompleks, E, kalsium, fosfor, magnesium, dan zat besi. Kacang kedelai merupakan kelompok kacang yang memiliki kandungan protein dan asam amino tritopan yang banyak. Kedelai dibedakan menjadi beberapa jenis, dan

yang paling sering digunakan adalah kedelai putih atau *Glycine max* dan kedelai hitam atau *Glycine soya* (Apriyanto, 2022).

b. Klasifikasi

Menurut Dasuki (1991), kacang kedelai (*Glycine max (L.) Merril*) atau (*Glycine max (L.) Merr*) memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Devisi : Spermatophyta  
Subdivisio : Angispermae  
Kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Rosales  
Famili : Leguminosae  
Genus : Glycine  
Species : Glycine max (L.) Merril

c. Kandungan

Kedelai memiliki kandungan protein sebanyak 35%, dan pada varietas kedelai yang unggul kandungan protein didalamnya mencapai 40-43%, selain itu terdapat kandungan asam amino, methionine dan sistin yang banyak (Sumarno, 1991). Kacang kedelai memiliki kandungan protein yang terbaik, kadar lemak jenuh rendah, dan merupakan sumber serat. Kacang kedelai memiliki kandungan isoflavon yang tinggi yang berkaitan dengan pencegahan dan penanganan penyakit degenerasi (Krisnawati, 2017). Menurut United States Departement of Agriculture (2019), dalam 100 gram kacang kedelai

terdapat 10,62 gram protein, 13,75 gram karbohidrat, 3,5 gram serat dan 150 kkal energi.

Tabel 3. Kandungan gizi kacang kedelai kering dalam 100 gram

<b>Kandungan</b>	<b>Jumlah</b>
Air	12,7 g
Energi	381 kal
Protein	40,4 g
Lemak	16,7 g
Karbohidrat	24,9 g
Serat	3,2 g
Kalsium	222 mg
Fosfor	682 mg
Besi	10,0 mg
Natrium	210 mg
Kalium	713,4 mg
Vitamin B1	0,52 mg
Vitamin B2	0,12 mg

Sumber: Kemenkes RI, 2020.

## 9. Yeast Ekstrak

### a. Deskripsi

Yeast ekstrak merupakan bahan yang digunakan dalam kultur sel dan memiliki kemampuan menstimulasi pertumbuhan bakteri dengan sangat baik. Yeast ekstrak adalah autolisa dari sel yeast yang digunakan sebagai media kultur. Dalam yeast ekstrak terdapat vitamin, nitrogen, asam amino dan karbon yang membantu pertumbuhan mikroorganisme. Yeast ekstrak sering digunakan dengan konsentrasi 3 gram/L (Phukoetphim dkk., 2019 dalam Nafisa dan Wijanarka, 2025).

Yeast ekstrak atau ekstrak ragi mengandung protein, asam amino, dan faktor pertumbuhan seperti vitamin B, karbohidrat dan garam

anorganik seperti potassium dan fosfat. Yeast ekstrak memiliki fungsi sebagai faktor pertumbuhan bakteri (Atmanto, 2022). Ekstrak ragi dalam pertumbuhan mikroba digunakan sebagai substrat yang baik dan sebagai sumber nutrisi (Widiastoety dkk, 2003 dalam Martiningsih dkk., 2023).

b. Kandungan

Ekstrak ragi merupakan produk olahan yang diperoleh dari sel ragi yang terdiri oleh komponen larut sel. Produksi ekstrak ragi biasanya banyak menggunakan spesies *Saccharomyces cerevisiae* atau ragi roti. Dalam ekstrak ragi terdapat asam amino, lipid, vitamin, mineral, dan zat terlarut lain (Zarei, 2016 dalam Surahman, 2024). Ekstrak ragi digunakan sebagai sumber nitrogen dan pertumbuhan sel, selain itu ekstrak ragi digunakan untuk menjaga dan memelihara kemampuan sel dalam pembentukan enzim (Widyastoety, 2013 dalam Surahman, 2024).

10. Kaldu Daging Sapi

a. Deskripsi

Ekstrak daging memiliki fungsi sebagai sumber faktor pertumbuhan karena mengandung zat penguraian protein dan karbohidrat, garam anorganis, enzim, dan faktor yang dapat mengoptimalkan pertumbuhan bakteri. Selain itu ekstrak daging memiliki kandungan vitamin B kompleks untuk pertumbuhan bakteri (Atmanto, 2022).

Kaldu merupakan produk makanan yang diperoleh dengan mengolah tulang, daging, atau sayuran dengan proses merebus untuk

mendapat ekstrak sari. Waktu perebusan kaldu dengan durasi yang lama akan menghasilkan lebih banyak ekstrak nutrisi seperti lemak, karbohidrat, protein dan mineral. Mineral pada rebusan ini dihasilkan karena lemak yang terurai sehingga memudahkan penyerapan mineral (Jawetz dkk, 2018). Kaldu merupakan hasil proses ekstraksi berbagai bahan makanan seperti daging ayam, daging sapi, makanan laut dan sayuran (Agung dkk., 2020).

b. Kandungan

Daging sapi sering digunakan untuk mencukupi kandungan protein pada media pertumbuhan bakteri yang diolah menjadi kaldu terlebih dahulu, penambahan kaldu daging sapi ini digunakan sebagai pengganti ekstrak daging pada media Nutrient agar yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Daging sapi kaya akan protein, asam amino esensial, vitamin, micronutrient, lemak, air, dan mineral. Daging sapi mengandung 16-20% protein, 1,5 – 13% mineral, vitamin A, Vitamin B dan asam-asam esensial (Permata dkk., 2019).

11. Gula Pasir

a. Deskripsi

Gula merupakan senyawa organik yang berguna sebagai sumber kalori karena gula mudah dicerna oleh tubuh. Gula digunakan sebagai bahan baku pembuatan alcohol, bahan pengawet makanan dan pencampuran obat-obatan, dan terdapat penelitian yang menggunakan gula sebagai bahan media alternatif (Goutara dan Wijandi, 1975). Gula

pasir berasal dari cairan sari tebu. Cairan sari tebu akan mengalami proses kristalisasi dan berubah menjadi butiran gula berwarna putih bersih atau putih agak kecoklatan atau *raw sugar*.

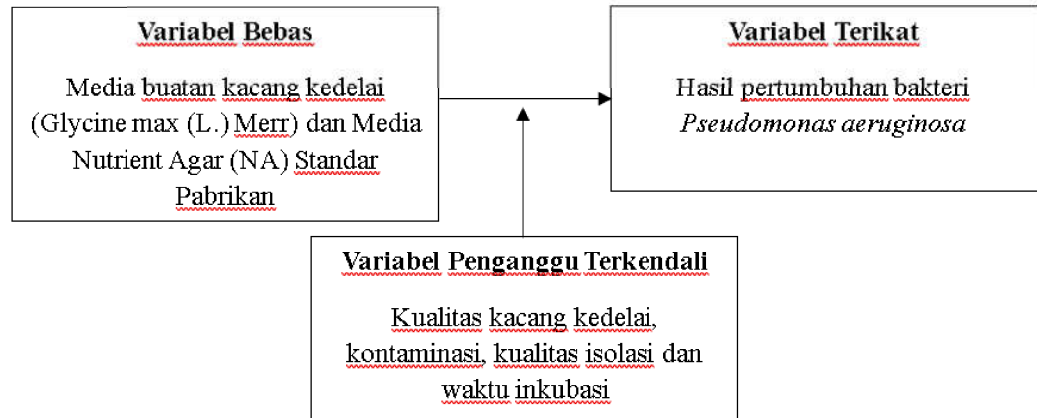
Gula merupakan komponen yang umumnya ditambahkan pada berbagai produk konsumen, gula memberikan rasa manis selain itu dalam beberapa penelitian gula memiliki peran penting dalam pertumbuhan bakteri. Gula digunakan sebagai bahan pertumbuhan bakteri karena berfungsi sebagai sumber energi, fermentasi gula, dan pertumbuhan bakteri patogen (Biologi UMA, 2023).

b. Kandungan

Gula memiliki fungsi sebagai nutrisi bagi bakteri dan sebagai substrat. Proses fermentasi pada gula terjadi saat gula dirombak oleh khamir menjadi sukrosa sehingga menghasilkan glukosa dan fruktosa yang dimanfaatkan melalui proses glikolisis dan akan menghasilkan asam piruvat dan berubah menjadi asam laktat serta menjadi alcohol dan CO<sub>2</sub>. Gula juga berperan sebagai sumber karbon dan energi bagi bakteri dengan mengoksidasi gula secara aerobik untuk memperoleh energi (Mulyani dkk., 2021). Dalam gula pasir atau gula semut terdapat kandungan sukrosa sebesar 95,174% dan air sebesar 1,09%, gula mengandung sukrosa yang merupakan anggota dari disakarida (Albaar dkk., 2020).

## B. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hubungan Antar Variabel

## C. Pernyataan Penelitian

Media buatan kacang kedelai (*Glycine max (L.) Merr*) dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* seperti dengan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Nutrient Agar (NA).