

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Media Pertumbuhan

a. Definisi

Media merupakan suatu substansi yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang dibutuhkan bagi pertumbuhan serta perkembangbiakan jasad renik (Rosidah, 2016). Media kultur mikrobiologi adalah zat yang mendorong pertumbuhan, mendukung, dan memastikan kelangsungan hidup mikroorganisme. Media kultur mikrobiologi sangat penting untuk pembiakan dan pertumbuhan mikroorganisme (Sandle, 2019).

b. Syarat Pertumbuhan Media

Media pertumbuhan dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme dengan optimal apabila memenuhi persyaratan, antara lain memiliki kelembapan yang memadai, pH yang tepat, kadar oksigen yang sesuai, mengandung sumber energi seperti protein dan karbohidrat, mengandung karbon, nitrogen, garam, memiliki temperature yang sesuai dan mengandung faktor pertumbuhan (Atmanto dkk., 2022).

c. Kegunaan media pertumbuhan

Media kultur atau pertumbuhan digunakan untuk berbagai tujuan dalam mikrobiologi, termasuk isolasi mikroorganisme,

penghitungan jumlah koloni, serta pengujian sifat fisik mikroba untuk proses identifikasi. (Susanti dkk., 2022).

Menurut (Kumar, 2022) penanaman bakteri memiliki tiga tujuan utama:

- 1) Untuk menumbuhkan dan mengisolasi semua bakteri yang terdapat dalam infeksi.
- 2) Infeksi dan kontaminan atau kolonisasi: Untuk menentukan bakteri mana yang tumbuh paling mungkin menyebabkan infeksi dan mana yang kemungkinan merupakan kontaminan atau kolonisasi.
- 3) Identifikasi dan karakterisasi: Untuk memperoleh pertumbuhan yang cukup dari bakteri yang relevan secara klinis agar memungkinkan identifikasi dan karakterisasi.

d. Macam-macam Media

Media kultur baru saat ini meniru lingkungan alami bakteri dengan menambahkan unsur-unsur berbeda dalam media kultur untuk membudidayakan bakteri yang sebelumnya tidak dapat dibudidayakan (Bonnet dkk., 2020).

- 1) Media berdasarkan bentuknya
 - a) Media padat

Media yang mengandung agar 15% sehingga setelah dingin media menjadi padat, contohnya yaitu media *nutrient agar* (Atmanto dkk., 2022). Pada media padat, bakteri

memiliki morfologi koloni yang khas dan menunjukkan banyak ciri khas lainnya seperti pigmen atau hemolisis, sehingga memudahkan identifikasi (Kumar, 2022).

b) Media semi padat

Media ini digunakan untuk tujuan khusus, pada agar ditambahkan ke media dalam konsentrasi yang rendah untuk mengeraskan media tersebut. Pada konsentrasi 0,2 hingga 0,5 persen, media tersebut menjadi semi-padat yang memungkinkan bakteri motil, tetapi bukan bakteri non-motil, untuk menyebar (Kumar, 2022). Media semi-padat dapat bersifat selektif, yang mampu mengkultur satu organisme dan menghambat pertumbuhan organisme lain. Jenis media ini dapat digunakan untuk mempelajari motilitas bakteri (Varghese dan Joy, 2014).

c) Media cair

Media kultur cair, yang juga disebut *culture broths*, nutrisi dilarutkan dalam air. Pertumbuhan bakteri dalam jenis media ini dapat ditunjukkan oleh munculnya kekeruhan dalam media, meskipun hal ini tidak selalu terjadi. Sulit untuk mengisolasi bakteri secara spesifik dalam jenis media ini. Memang, bakteri yang diperoleh dari sampel yang diinokulasi ke dalam kaldu kultur tercampur satu sama lain. Selain itu, jenis medium kultur ini tidak memungkinkan

karakteristik morfologis spesies bakteri untuk diidentifikasi (Bonnet dkk., 2020). Media cair umumnya digunakan untuk pertumbuhan bakteri dalam skala besar, seperti yang terlihat pada kaldu nutrisi (*Nutrient broth*) (Kasiyati dkk., 2023).

2) Media berdasarkan fungsinya

Beberapa jenis media berdasarkan fungsinya menurut Sukhorukov (2021):

a) Media Serbaguna

Media dasar, yang juga dikenal sebagai media serbaguna, adalah media yang mendukung kondisi pertumbuhan sebagian besar bakteri yang tidak pilih-pilih. Air peptone, kaldu nutrisi, dan nutrient agar (NA) dianggap sebagai media dasar. Jenis media ini umumnya digunakan untuk isolasi pertama mikroorganisme.

b) Media *Enriched* (media diperkaya)

Penambahan nutrisi tambahan seperti darah, serum, kuning telur, dan lain lain, ke media dasar, dihasilkan media diperkaya (*enriched*). Media enriched digunakan untuk menumbuhkan bakteri yang membutuhkan nutrisi khusus (*fastidious*). Contoh media enriched antara lain chocolate agar, Loeffler's serum slope.

c) Media *Enrichment* (media pengayaan)

Media ini digunakan untuk meningkatkan konsentrasi relatif mikroorganisme tertentu dalam kultur sebelum ditanam pada media selektif padat. Berbeda dengan media selektif, kultur pengayaan biasanya digunakan sebagai media cair. Media pengayaan adalah media cair yang juga berfungsi untuk menghambat mikroorganisme komensal dalam spesimen klinis. Selenite F broth, tetrathionate broth, dan alkaline peptone water (APW) sering digunakan untuk mengisolasi patogen dari spesimen feses.

d) Media Selektif

Media selektif dirancang untuk menekan pertumbuhan beberapa mikroorganisme juga memungkinkan pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Media selektif berbasis agar (padat) sehingga koloni individu dapat diisolasi. Contohnya *MacConkey Agar* yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri gram negatif mengandung garam empedu yang menghambat pertumbuhan bakteri gram-positif.

e) Media Diferensial/Indikator

Beberapa media dirancang sedemikian rupa sehingga bakteri yang berbeda dapat diidentifikasi berdasarkan warna koloni mereka. Berbagai pendekatan termasuk penambahan

pewarna, substrat metabolik, dan lain lain, sehingga bakteri yang menggunakannya muncul sebagai koloni dengan warna yang berbeda. Media semacam ini disebut media diferensial atau media indikator. Media diferensial memungkinkan pertumbuhan lebih dari satu mikroorganisme yang diminati tetapi dengan koloni yang secara morfologis dapat dibedakan.

f) Media transportasi

Media ini mencegah pengeringan (desikasi) spesimen, mempertahankan rasio patogen terhadap komensal, dan menghambat pertumbuhan berlebihan bakteri yang tidak diinginkan. Beberapa media ini (*Stuart's & Amie's*) memiliki konsistensi setengah padat.

3) Media berdasarkan komposisinya

Berdasarkan Amelia, dkk. (2023) media ini dibagi menjadi tiga yaitu:

a) Media sintesis

Media yang komposisi zat kimianya (glukosa, agar, dll) diketahui secara jelas dan pasti, misalnya *Glucose Agar*, *MacConkey Agar*. Media ini seluruh susunan kimia dan kadarnya telah diketahui dengan pasti.

b) Media semi sintesis

Media yang Sebagian komposisinya diketahui secara pasti contoh *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang terdiri dari agar, dekstrosa, dan ekstra kentang.

c) Media non sintesis

Media yang dibuat langsung dari bahan dasarnya dengan komposisi yang tidak dapat diketahui secara pasti.

Contoh: *Brain Heart Infusion Agar*, *Pancreatic Extract*.

2. Media *MacConkey Agar* (MCA)

a. Definisi

Agar MacConkey adalah agar selektif dan diferensiatif yang hanya menumbuhkan spesies bakteri gram negatif. Agar ini membedakan organisme gram negatif lebih lanjut berdasarkan metabolisme laktosanya. Sifat selektif dan diferensiatif agar *MacConkey* memungkinkan pemanfaatannya untuk penelitian dan aplikasi klinis. Fermentasi laktosa menghasilkan asam organik, terutama asam laktat, yang menurunkan pH agar.

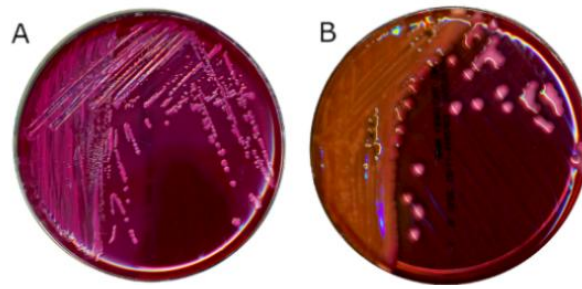
MCA mengandung indikator pH yang berubah menjadi merah muda dalam kondisi asam. Oleh karena itu, bakteri gram negatif yang memfermentasi laktosa (fermentor laktosa) akan membentuk koloni merah muda, sementara yang tidak memfermentasi laktosa akan membentuk koloni buram berwarna putih pucat. Bahkan di dalam fermentasi laktosa, spesies akan

menunjukkan laju pertumbuhan yang bervariasi. Laju pertumbuhan juga merupakan cara untuk membedakan organisme lebih lanjut dalam media MCA (Jung, dkk., 2024).

b. Kandungan

Komponen utama media *MacConkey* meliputi pepton, pewarna kristal violet, garam empedu, laktosa, dan merah netral (indikator pH). Pepton sebagai sumber nitrogen, vitamin, mineral, dan asam amino esensial untuk pertumbuhan bakteri. Pewarna kristal violet dan garam empedu menghentikan pertumbuhan bakteri gram positif. Hal ini memungkinkan hanya spesies gram negatif untuk membentuk koloni pada agar (Lagier, dkk., 2015).

Laktosa dalam agar merupakan sumber fermentasi. Mikroorganisme yang memfermentasi laktosa akan menghasilkan asam organik, terutama asam laktat, yang akan menurunkan pH. Neutral red adalah indikator pH yang berubah dari putih pucat menjadi merah terang/merah muda saat pH turun di bawah 6,8 (Jung, dkk., 2024). Contoh spesies laktose positif *Escherichia coli*, *Enterobacteria*, *Klebsiella* berwarna merah.



Gambar 1. MacConkey Agar pada A. *Escherichia coli*
B. *Klebsiella pneumoniae*

Sumber: Smith, 2019.

Bakteri yang kuat dalam fermentasi laktosa menghasilkan asam yang cukup untuk menyebabkan presipitasi garam empedu, yang mengakibatkan warna merah muda di medium yang mengelilingi koloni individu atau area pertumbuhan yang menyatu. Bakteri dengan fermentasi laktosa yang lebih lemah yang tumbuh pada agar *MacConkey* masih akan tampak merah muda hingga merah (Smith, 2019).

3. Indikator Neutral red

Neutral red (3-amino-7-dimethylamino-2-methylphenazine hydrochloride) dengan rumus kimia $C_{15}H_{17}ClN_4$. Netral red adalah hidroklorida yang diperoleh dengan menggabungkan basa bebas merah netral dengan satu ekuivalen asam klorida. Merah netral bertindak sebagai indikator pH, berubah dari merah menjadi kuning antara pH 6,8 dan 8,0. Merah netral berperan sebagai pewarna, indikator asam-basa, dan indikator dua warna. Neutral red mengandung warna merah netral (NCBI, 2025).

Netral red adalah indikator pH yang berubah dari putih pucat menjadi merah terang/merah muda saat pH turun di bawah 6,8 (Jung, dkk. 2024). Bakteri yang memfermentasi laktosa menghasilkan koloni berwarna merah muda-merah, setelah memfermentasi laktosa menjadi asam dan menurunkan pH indikator (netral red) yang terdapat dalam MCA.

4. Indikator Phenol red

Phenol red adalah senyawa 3H-2,1-Benzoksathiole 1,1-dioksida yang kedua hidrogennya pada posisi 3 telah tersubstitusi oleh gugus 4-hidroksifenil dengan rumus kimia $C_{19}H_{14}O_5S$. Fenol merah merupakan indikator pH yang berubah warna dari kuning di bawah pH 6,8 menjadi merah muda cerah di atas pH 8,2. Phenol red umumnya digunakan sebagai indikator dalam kultur sel dan dalam kit uji kolam renang rumah. Fenol merah juga digunakan dalam uji fenolsulfonftalein (yang sekarang jarang dilakukan) untuk memperkirakan aliran darah keseluruhan melalui ginjal. Fenol merah berperan sebagai indikator dua warna, indikator asam-basa, dan agen diagnostic (NCBI, 2025).

Phenol red berwarna kuning pada $pH < 6,8$ dan merah pada $pH > 7,4$ dengan berbagai nuansa kuning atau merah yang sesuai dengan tingkat pH. Responsnya dalam rentang pH fisiologis dan ketersediaannya secara komersial, fenol merah sangat populer dalam banyak protokol kolorimetrik untuk mendeteksi aktivitas enzim, racun, gen defisiensi

kekebalan, kultur sel, kualitas makanan, dan penyembuhan luka (Wang dkk., 2023).

5. *Klebsiella pneumoniae*

a. Definisi

Klebsiella adalah genus bakteri berbentuk batang dari famili *Enterobacteriaceae*. *Klebsiella pneumoniae* adalah bakteri gram negatif, berkapsul, non-motil yang ditemukan dalam flora mulut, kulit, dan usus serta di lingkungan alam. Bakteri ini biasanya mengkolonisasi permukaan mukosa orofaring dan saluran gastrointestinal manusia (Ashurst, 2023).

Klebsiella pneumoniae juga dikenal sebagai pneumobacillus Friedlander, terdapat pada saluran pernapasan dan feses sekitar 5% individu normal. Bakteri ini menyebabkan sebagian kecil (~1%) pneumonia bakteri. *K.pneumoniae* dapat menyebabkan konsolidasi nekrotik hemoragik yang luas pada paru-paru. Bakteri ini juga dapat menyebabkan infeksi saluran kemih dan bakteremia dengan lesi fokal pada pasien yang daya tahan tubuhnya lemah. Mikroorganisme ini juga dapat menyebabkan pneumonia. Spesies *Klebsiella* termasuk dalam sepuluh patogen bakteri utama yang bertanggung jawab atas infeksi yang didapat di rumah sakit (Brooks, dkk 2013).

b. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* menurut *National Library of Medicine* melalui *database* Taksonomi sebagai berikut:

Kingdom: Pseudomonadati

Phylum: Pseudomonadota (Proteobacteria)

Class: Gammaproteobacteria

Order: Enterobacterales

Family: Enterobacteriaceae

Genus: Klebsiella

Species: Klebsiella pneumoniae

c. Morfologi

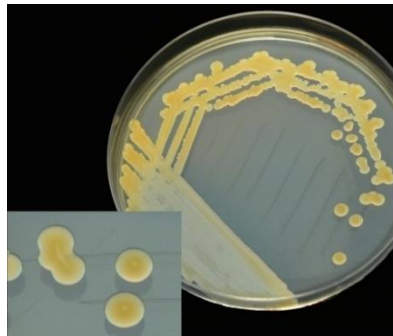
K.pneumoniae dikategorikan secara mikrobiologis sebagai bakteri gram negatif, anaerob fakultatif, dan tidak bergerak (Rogers, 2011).



Gambar 2. Pewarnaan gram *Klebsiella pneumoniae*
Sumber: (Labunda dkk., 2024)

Koloni *Klebsiella* besar dan sangat mukoid, serta cenderung menyatu jika diinkubasi dalam waktu lama. Spesies *Klebsiella* menunjukkan pertumbuhan mukoid, kapsul polisakarida besar, dan

tidak memiliki motilitas, serta biasanya memberikan hasil positif pada uji lisin dekarboksilase dan sitrat. Sebagian besar spesies *Enterobacter* memberikan hasil positif pada uji motilitas, sitrat, dan ornitin dekarboksilase, serta menghasilkan gas dari glukosa (Brooks dkk., 2013).



Gambar 3. *Klebsiella pneumoniae* pada media Nutrient agar
Sumber: microbiologyinpictures

d. Pathogenesis

Infeksi primer yang disebabkan oleh galur *K. pneumoniae* biasanya adalah pneumonia atau ISK. Galur *K. pneumoniae* juga menyebabkan infeksi yang sangat serius seperti bakteremia, dapat berupa bakteremia primer atau bakteremia sekunder yang timbul dari penyebaran sekunder dari infeksi primer di paru-paru atau kandung kemih. Pneumonia *K. pneumoniae* dapat dibagi menjadi dua kategori besar yaitu pneumonia yang didapat dari komunitas (*community-acquired pneumonias*) dan pneumonia yang didapat dari rumah sakit (*hospital-acquired pneumonias*) (Paczosa & Meccas, 2016).

Infeksi *Klebsiella* biasanya dikaitkan dengan tingkat mortalitas yang tinggi, terutama pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah. Di antara keluarga *Enterobacteriaceae*, *K. pneumoniae* merupakan penyebab utama pneumonia yang didapat di rumah sakit (Wu dan Li, 2015).

e. Identifikasi

Klebsiella tumbuh baik pada media biasa pada suhu antara 12 dan 43°C (optimum 37°C) dalam 18-24 jam. Pada agar MacConkey, koloni biasanya berukuran besar, berlendir (mukoid), dan berwarna merah. Sifat lendir koloni disebabkan oleh bahan kapsul yang diproduksi oleh mikroorganisme (Kumar, 2022).



Gambar 4. *Klebsiella pneumoniae* pada media MCA
Sumber: Hassan, 2019.

Identifikasi dengan pewarnaan Gram, hasil yang didapat adalah basil, berwarna merah. Kemudian dari pewarnaan Gram dilakukan penanaman pada media diferensial yaitu MCA seperti pada gambar 4 hasil koloni bulat, kecil, merah muda atau pink,

mucoïd dengan diameter koloni 3-4 milimeter kemudian dilakukan uji biokimia (Labunda dkk., 2024).

Tabel 1. Uji biokimia

Reaksi	Hasil
Glukosa	+
Laktosa	+
Sukrosa	+
Mannitol	+
Gas	+
Methyl Red	+
Indole	-
Citrate	+
Urease	+
Motility	-
H ₂ S	-

Sumber: Kumar, 2022.

K.pneumoniae memfermentasi gula (glukosa, laktosa, sukrosa, mannitol) dengan produksi asam dan gas. Positif urease, negatif indol, negatif Methyl Red, dan positif sitrat. Reaksi-reaksi ini khas untuk *K. pneumoniae*.

6. Pertumbuhan Bakteri

a. Definisi

Pertumbuhan bakteri merujuk pada peningkatan jumlah sel bakteri (pembelahan) yang disebabkan oleh peningkatan terprogram dalam biomassa bakteri. Pertumbuhan biasanya terjadi secara asinkron, yaitu tidak semua sel membelah pada saat yang persis sama (Bhatia dan Lal Ichhpujani, 2021).

b. Faktor Pertumbuhan Bakteri

Faktor pertumbuhan bakteri menurut Rini dan Rocmah (2020):

- 1) Temperatur. Setiap bakteri memiliki temperatur optimal dimana mereka dapat tumbuh sangat cepat dan memiliki rentang temperatur dimana mereka dapat tumbuh. Suhu optimum yaitu suhu paling baik untuk pertumbuhan mikroba. Berdasarkan suhu pertumbuhannya bakteri dibagi tiga yaitu bakteri Psikrofilik, dapat tumbuh pada suhu optimal 15°C dan dapat tumbuh pada suhu 0°C. Mesofilik, bakteri yang dapat tumbuh pada 20–40°C. Thermofilik yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu diatas 45°C (Bhatia dan Lal Ichhpujani, 2021).
- 2) pH medium biakan mempengaruhi kecepatan pertumbuhan, untuk pertumbuhan bakteri juga terdapat rentang pH dan pH optimal. Pada bakteri patogen pH optimalnya 7,2 – 7,6.
- 3) Kelembapan mikroorganisme dapat tumbuh pada kelembapan tertentu. Mikroba dapat tumbuh pada media yang basah dan udara lembab. Nilai kadar air bebas didalam larutan untuk bakteri pada umumnya antara 0,90 sampai 0, 999.
- 4) Kebutuhan oksigen bagi suatu bakteri mencerminkan mekanisme yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan energi. Bakteri anaerob tumbuh jika tidak ada oksigen bebas. Bakteri aerob tumbuh pada atmosfir oksigen bebas. Bakteri anaerob

fakultatif tumbuh baik dengan atau tanpa oksigen, dan bakteri mikroaerofilik tumbuh jika ada sedikit oksigen.

- 5) Tekanan osmosis Jika tekanan osmotik lingkungan lebih tinggi (hipertonik), sel akan mengalami plasmolisis (pengeluaran cairan dari sel bakteri melalui membran sitoplasma). Jika tekanan osmotik lingkungan lebih rendah (hipotonik), menyebabkan sel membengkak dan mengakibatkan kerusakan sel. Oleh karena itu, agar dapat bertahan hidup, sel bakteri harus berada pada tingkat tekanan osmotik yang sesuai.

6) Nutrisi

Sebagian besar bakteri yang penting secara medis hanya akan tumbuh jika tersedia sumber bahan organik sebagai nutrisi. Untuk pertumbuhan beberapa bakteri, satu sumber saja sudah cukup, sedangkan yang lain lebih selektif dan memerlukan media kompleks yang mengandung beberapa bahan organik. Sumber dasar tersebut adalah karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya.

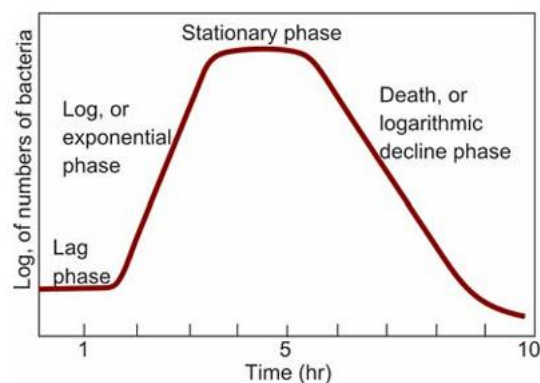
7) Ion lain

Untuk pertumbuhannya bakteri membutuhkan unsur unsur kimia seperti C, H, N, S, dan P. Ion-ion ini dapat mengurangi pertumbuhan mikroba tertentu. Oleh sebab itu ion-ion ini dapat digunakan untuk mengawetkan suatu bahan.

c. Kurva pertumbuhan

Kurva pertumbuhan standar mendefinisikan bagaimana mikroorganisme tumbuh dalam kultur laboratorium yang umumnya mendekati kondisi pertumbuhan optimumnya (Gonzalez dan Aranda, 2023).

Berikut fase pertumbuhan bakteri menurut Bhatia dan Lal Ichhpujani (2021):



Gambar 5. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sumber: Bhatia & Lal Ichhpujani, 2021

1) Fase Lag

Fase ini berlangsung singkat, di mana bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan baru sedemikian rupa sehingga sel bakteri menyesuaikan diri dengan nutrisi yang tersedia. Fase ini merupakan periode datar pada grafik karena sel-sel yang baru ditanam memerlukan waktu untuk penyesuaian, pembesaran, dan sintesis. Enzim dan senyawa perantara terbentuk dan menumpuk hingga konsentrasinya cukup untuk memungkinkan pertumbuhan dilanjutkan.

2) Fase Logaritmik (Fase Eksponensial)

Pertumbuhan bakteri yang teratur terjadi pada fase ini yang juga berdurasi singkat karena nutrisi yang tersedia dalam medium dimanfaatkan oleh bakteri dan sel anak. Setelah nutrisi habis, pertumbuhan melambat dan bakteri beralih ke fase stasioner. Morfologi bakteri paling berkembang pada fase ini dan organisme menunjukkan karakter biokimia khas.

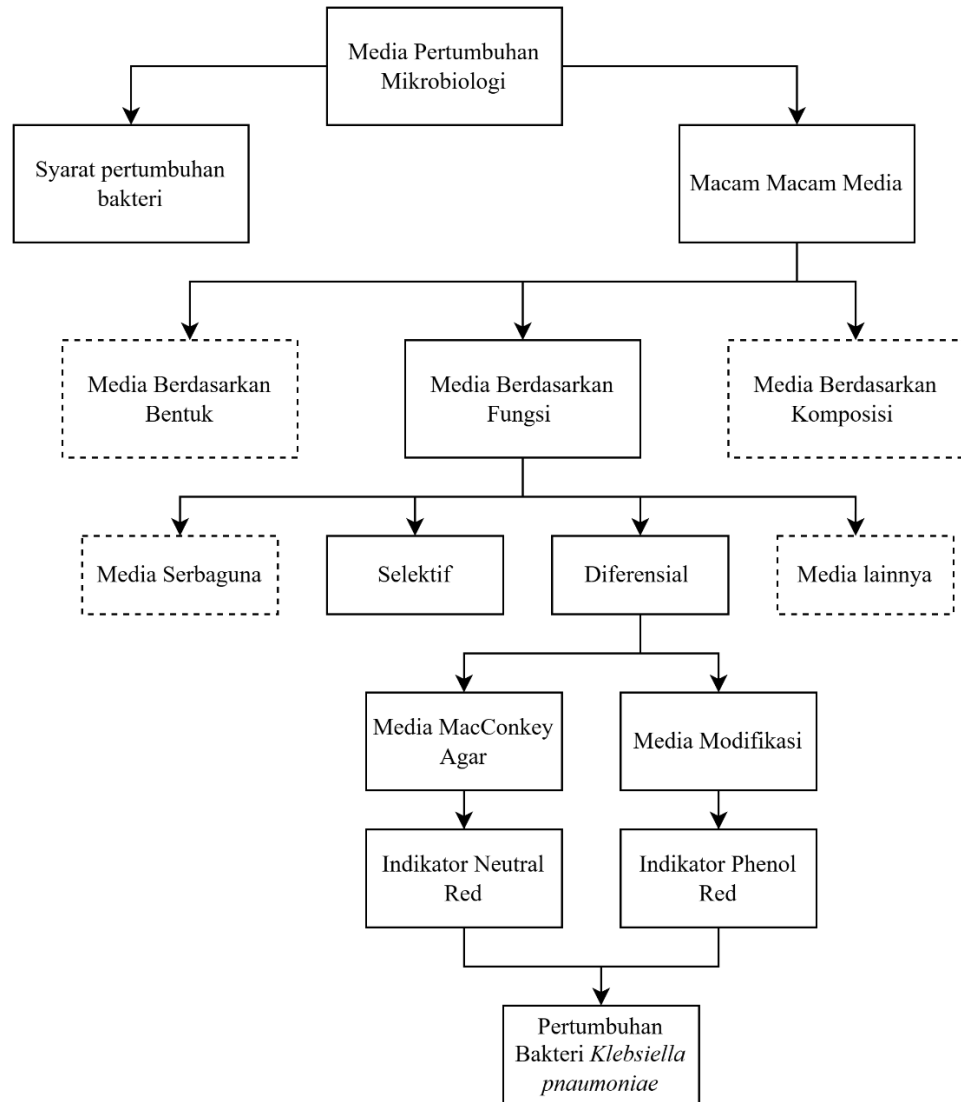
3) Fase Stasioner

Fase ini terjadi ketika kondisi kultur berubah sedemikian rupa sehingga pertumbuhan sel seimbang dengan kematian sel.

4) Fase Penurunan

Fase penurunan juga disebut sebagai fase kematian. Akibat habisnya nutrisi dan penumpukan produk akhir toksik, jumlah bakteri yang mati jauh lebih banyak daripada yang membelah, sehingga terjadi penurunan bertahap dalam jumlah total organisme. Kurva pertumbuhan kini menurun ke bawah. Bagi sel mikroba, kematian berarti hilangnya kemampuan untuk bereproduksi (tumbuh dan membelah) secara irreversibel.

B. Kerangka Teori



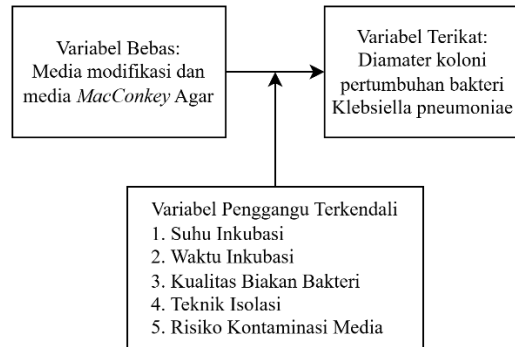
Gambar 6. Kerangka Teori

Keterangan:

: diteliti

: diteliti

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 7. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah tidak terdapat perbedaan diameter koloni bakteri hasil pertumbuhan pada media modifikasi MCA indikator phenol red dengan media *MacConkey Agar* standar.