

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*

a. Klasifikasi

Klasifikasi ilmiah bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebagai berikut (Dita et al., 2019):

Domain	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gama Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Klebsiella</i>
Spesies	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

b. Morfologi dan Karakteristik

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang (bacillus) yang non-motil (tidak bergerak) dan tidak membentuk spora. Strukturnya dilapisi oleh kapsul polisakarida yang tebal, menyebabkan tampilan koloni yang sangat mucoid atau berlendir

pada media kultur. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C, menjadikannya sangat cocok hidup di lingkungan tropis. Pada pewarnaan gram, sel ini akan berwarna pink/merah. Ukuran sel umumnya sekitar 1–2 µm panjang dan 0,5–0,8 µm lebar, tumbuh tunggal atau berpasangan. Patogenitas. pada agar MacConkey, *Klebsiella pneumoniae* menghasilkan koloni besar, bulat, dan mucoid berwarna merah jambu karena kemampuan fermentasi laktosa (Sava et al., 2025). Kapsul polisakarida eksternal mempengaruhi tampilan berlendir tersebut dan bersifat sebagai faktor virulensi utama (Ramakrishnan et al., 2024).

c. Patogenitas

Klebsiella pneumoniae merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, termasuk pneumonia yang berhubungan dengan ventilator, infeksi saluran kemih, bakteriemia, serta infeksi luka dan abses organ (Ochońska et al., 2024).

Strain hipervirulen (hvKp) semakin dilaporkan menyebabkan penyakit komunitas akut seperti abses hati, meningitis, dan sepsis pada pasien sehat tanpa faktor risiko klasik, menandakan ekspansi patogen dalam populasi umum (Hyun et al., 2024).

Kemampuan *Klebsiella pneumoniae* untuk mengakuisisi dan menyebarkan gen resistensi, seperti gen yang mengkode *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL), juga meningkatkan tingkat kegagalan terapi dan morbiditas mortalitas yang terkait infeksi.

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* biasanya mengkolonisasi selaput lendir mulut dan tenggorokan, serta saluran pencernaan. Setelah masuk ke dalam tubuh, bakteri ini dapat menunjukkan virulensi tinggi dan resistensi antibiotik. Saat ini, pneumonia yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* adalah penyebab pneumonia yang didapat di rumah sakit yang paling umum di Amerika Serikat, patogen ini bertanggung jawab atas 3 hingga 8% dari semua infeksi bakteri di rumah sakit (Aghamohammad et al., 2020).

Patogenitas *Klebsiella pneumoniae* dipengaruhi oleh kombinasi beberapa faktor virulensi yang memungkinkannya untuk menempel, menghindari respon imun, memperoleh nutrisi, dan merusak jaringan host.

1) Kapsul Polisakarida

Kapsul polisakarida (*capsular polysaccharide*, CPS) merupakan salah satu faktor virulensi utama yang membantu *Klebsiella pneumoniae* menghindari fagositosis dan sistem kekebalan host (Ochońska et al., 2024).

2) Fimbriae dan Adhesi

Struktur seperti fimbriae dan adhesin memungkinkan bakteri untuk menempel pada permukaan epitel host, penting untuk kolonisasi awal dan pembentukan biofilm pada jaringan atau alat medis (Ochońska et al., 2024).

3) Siderofor dan Akuisisi Besi

Klebsiella pneumoniae menghasilkan siderofor seperti aerobactin, enterobactin, salmochelin, dan yersiniabactin untuk mengambil besi dari lingkungan host, faktor penting dalam pertumbuhan dan virulensi in vivo (Ochońska et al., 2024).

4) Mekanisme Hipervirulen

Strain hvKp menunjukkan fenotipe hypermucoviscous (positif string test) dan sering memegang gen virulensi seperti *ompA* dan siderofor terkait virulensi tinggi, yang berkorelasi dengan infeksi invasif seperti abses hati dan sepsis komunitas (Hyun et al., 2024).

5) Biofilm dan Resistensi

Kemampuan membentuk biofilm berkontribusi terhadap ketahanan terhadap antibiotik dan persistensi infeksi, sehingga menambah kompleksitas dalam pengendalian klinis (Hyun et al., 2024).

2. Identifikasi Bakteri

1) Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* pada Media MacConkey Agar

MacConkey agar merupakan media selektif dan diferensial yang sering digunakan dalam isolasi bakteri gram-negatif usus, termasuk *Klebsiella pneumoniae*. Media ini mengandung laktosa dan indikator pH (neutral red), sehingga bakteri yang memfermentasikan laktosa akan menghasilkan koloni berwarna merah/pink, sedangkan yang tidak memfermentasikan tetap transparan atau tidak berubah warna.

Pada media MacConkey Agar *Klebsiella pneumoniae* muncul sebagai koloni besar, berwarna pink, serta bersifat mucoid setelah 24–48 jam inkubasi pada 37 °C. Warna pink menunjukkan kemampuan fermentasi laktosa, yang merupakan salah satu indikator diferensial utama dalam identifikasi awal (Ibraheim et al., 2024).

2) Uji Biokimia dalam Identifikasi *Klebsiella pneumoniae*

Setelah pertumbuhan meningkat pada media selektif seperti MacConkey agar, langkah selanjutnya adalah uji biokimia untuk mengkonfirmasi identitas bakteri. Uji-uji ini berfungsi untuk menentukan profil metabolik dan enzimatik yang khas pada *Klebsiella pneumoniae*. Uji-uji yang sering dipakai meliputi:

a) Gram Staining

Klebsiella pneumoniae adalah bakteri Gram-negatif berbentuk batang, tidak bermotil, dan tidak membentuk spora. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan warna merah (Gram-negatif) (Ibraheim et al., 2024).

b) Uji IMViC

Kelompok uji IMViC (Indol, Methyl Red, Voges-Proskauer, Citrate) sering digunakan untuk membedakan *Enterobacteriaceae* (Ibraheim et al., 2024):

Indol : Negatif (tidak menghasilkan indol)

Methyl Red (MR) : Negatif

Voges-Proskauer (VP): Positif

Citrate : Positif

c) Uji Urease

Klebsiella pneumoniae biasanya positif urease, menandakan kemampuan menghasilkan enzim urease yang menghidrolisis urea menjadi amonia.

d) Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Uji TSIA menunjukkan bahwa bakteri fermentasi gula termasuk glukosa dan laktosa, menghasilkan asam (ditandai dengan perubahan warna medium menjadi kuning) dan gas, tetapi tidak menghasilkan H_2S .

e) Uji Motilitas dan Enzim Lainnya

Motilitas : Negatif (non-motil)

Oxidase : Negatif

Catalase : Positif.

(Ibraheim et al., 2024)

3. Media Pertumbuhan Nutrient Broth

Media pertumbuhan kuman/mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Media kultur digunakan sebagai gold standar dalam penegakan diagnosa pasti suatu penyakit infeksi, juga dapat dipergunakan untuk isolasi, pengujian sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi pada media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel nya. Media kultur bervariasi dalam bentuk dan komposisi, tergantung pada jenis spesies yang dikembangkan (Atmanto et al., 2022).

Nutrient Broth (NB) merupakan media cair umum yang sering digunakan dalam mikrobiologi untuk menumbuhkan berbagai bakteri yang

tidak memerlukan nutrisi khusus (non-fastidious). Komposisi media ini secara klasik tersusun dari pepton dan ekstrak daging (beef extract) sebagai sumber nitrogen dan karbon yang dapat dimetabolisme oleh bakteri, serta garam yang membantu keseimbangan osmotik. Media ini termasuk ke dalam media “general purpose” atau dasar, yang digunakan untuk kultur awal bakteri, pembiakan kultur stok, dan penelitian pertumbuhan mikroba. Keunggulan media cair adalah kemampuannya untuk mendukung pertumbuhan cepat bakteri dalam fase eksponensial karena nutrisi mudah diakses oleh sel dalam seluruh volume media.

Meskipun NB sering dipandang sebagai media yang relatif sederhana dibandingkan media yang lebih kaya (misalnya Tryptic Soy Broth atau Brain Heart Infusion Broth), NB tetap sering digunakan sebagai media kontrol atau dasar dalam banyak penelitian mikrobiologi modern. Penelitian terbaru menunjukkan penggunaan NB sebagai media untuk kultur awal isolat bakteri sebelum dilakukan pengujian lanjutan seperti uji biofilm, uji aktivitas antibakteri, atau pengukuran laju pertumbuhan bakteri klinis (Maqsoodi et al., 2025).

4. Sumber Karbon Glukosa

Glukosa merupakan monosakarida yang paling umum digunakan sebagai sumber karbon dan energi utama dalam berbagai media pertumbuhan bakteri karena kemampuannya diakses dan dimetabolisme

secara efisien oleh banyak spesies bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa glukosa membantu bakteri keluar dari fase lag dan masuk ke fase logaritmik lebih cepat melalui metabolisme sumber karbon yang tersedia (Vasiljevs et al., 2023).

Variasi konsentrasi glukosa dalam media kultur dapat memengaruhi pola metabolisme bakteri berbeda-beda. Beberapa bakteri menunjukkan peningkatan pertumbuhan hingga titik tertentu, tetapi jika konsentrasi glukosa terlalu tinggi, pertumbuhan justru bisa terhambat atau menurun akibat akumulasi metabolit samping serta perubahan pH media akibat fermentasi intensif. Hal ini menunjukkan pentingnya optimasi konsentrasi glukosa sesuai spesies target dan tujuan kultur (mis. biomassa vs metabolit sekunder) (Chen et al., 2023).

Penambahan glukosa dalam media kultur dapat meningkatkan ketersediaan energi dan substrat yang diperlukan untuk metabolisme dasar dan pertumbuhan bakteri. Hal ini sejalan dengan mekanisme umum bakteri *Enterobacteriaceae* yang menggunakan glukosa melalui jalur glikolisis dan respirasi/fermentasi untuk menghasilkan ATP (He et al., 2025).

5. Pengamatan Kekeruhan Bakteri dengan BD PhoenixSpec™ Nephelometer

a. Prinsip Nephelometry dalam Pengukuran Kekeruhan

Pengukuran kekeruhan (turbidity) suspensi bakteri adalah parameter penting dalam persiapan inokulum karena mencerminkan

konsentrasi sel bakteri dalam cairan. Teknik yang digunakan di banyak laboratorium mikrobiologi klinik adalah nephelometry, yaitu pengukuran hamburan cahaya oleh partikel dalam suspensi pada sudut tertentu. Nephelometry bekerja dengan memancarkan sumber cahaya melalui sampel dan kemudian mendeteksi intensitas cahaya yang tersebar (scattered light) oleh partikel bakteri; semakin tinggi hamburan cahaya, semakin tinggi kekeruhan dan konsentrasi bakteri. Metode ini memiliki sensitivitas lebih tinggi dibandingkan pengamatan visual sederhana atau turbidimetry karena nephelometry langsung mengukur cahaya tersebar pada sudut optimal ($\sim 90^\circ$) yang sangat sensitif terhadap jumlah partikel kecil seperti sel bakteri (Rasyid et al., 2013).

b. BD PhoenixSpec™ Nephelometer — Alat Pengukur Kekeruhan Standar

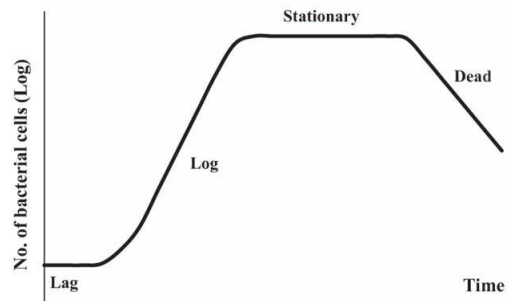
BD PhoenixSpec™ Nephelometer adalah perangkat portable berbasis nephelometry yang dirancang untuk mengukur kekeruhan suspensi mikroba secara akurat dalam rentang setara McFarland standard dari 0,10 hingga 4,50 McFarland. Alat ini secara khusus dipakai sebagai bagian dari sistem otomatis BD Phoenix™ Automated Microbiology System untuk menstandarkan densitas inokulum sebelum dilakukan identifikasi bakteri atau uji kepekaan antibiotik (AST) (Fisher Scientific, 2026).



Gambar 1. BD PhoenixSpec™ Nephelometer (Sumber: Fisher Scientific, 2026).

6. Fase Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dalam kultur tertutup (batch culture) biasanya digambarkan dalam bentuk kurva pertumbuhan bakteri, yang menunjukkan perubahan jumlah sel bakteri seiring waktu inkubasi. Kurva ini menggambarkan fenomena biologis penting yang terdiri dari beberapa fase berturut-turut: lag phase, exponential (log) phase, stationary phase, dan death phase. Pola kurva ini merupakan dasar bagi studi kinetika pertumbuhan mikroba, termasuk dalam evaluasi pengaruh variabel lingkungan seperti waktu inkubasi dan suplai nutrisi pada pertumbuhan bakteri seperti *Klebsiella pneumoniae*.



Gambar 2 Kurva pertumbuhan mikroorganisme (Sumber: Wang et al., 2015)

a. Lag Phase (Fase Lag / Adaptasi)

Fase lag merupakan tahap awal setelah inokulasi bakteri ke dalam medium baru di mana jumlah sel tidak bertambah secara signifikan, namun sel-sel tersebut aktif secara metabolik. Pada fase ini, bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan baru, mengaktifkan sintesis enzim, molekul RNA, dan komponen sel yang diperlukan untuk pembelahan sel berikutnya. Adaptasi ini meliputi aktivasi jalur metabolik untuk memanfaatkan sumber nutrisi dalam medium kultur. Lama fase ini dipengaruhi oleh kondisi fisiologis inokulum, komposisi medium, dan faktor lingkungan lain seperti pH dan suhu.

b. Exponential / Log Phase (Fase Eksponensial / Logaritmik)

Setelah fase lag selesai, bakteri memasuki fase eksponensial atau log, di mana terjadi pertumbuhan populasi secara cepat dan konstan melalui pembelahan biner. Pada fase ini, setiap sel membelah dengan laju yang relatif stabil yang dicerminkan sebagai peningkatan jumlah sel dalam pola

eksponensial. Tingkat pertumbuhan saat fase ini dipengaruhi oleh komposisi medium kultur dan kelimpahan nutrisi; medium yang kaya nutrisi akan mendukung laju pertumbuhan yang lebih tinggi dibanding medium yang miskin nutrisi.

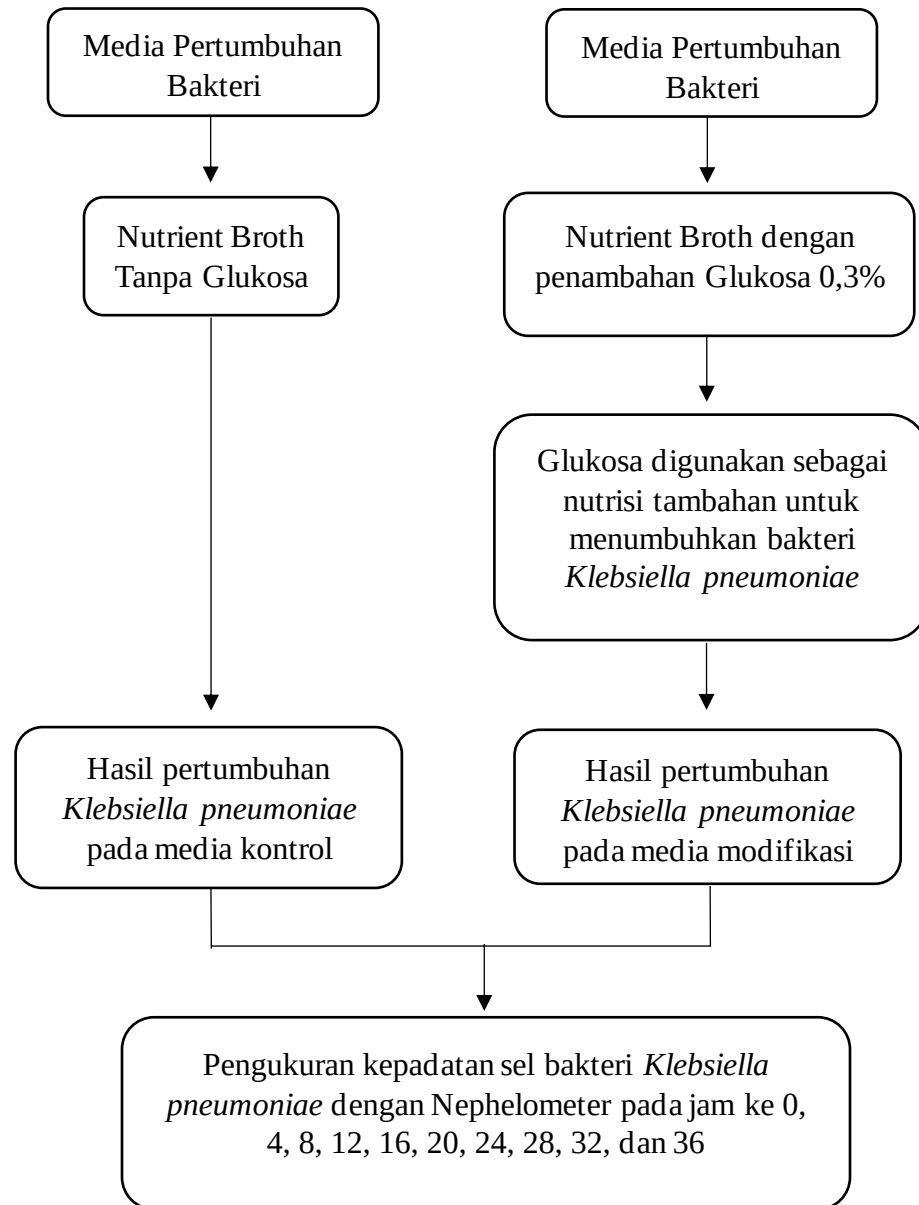
c. Stationary Phase (Fase Stasioner)

Ketika nutrisi mulai menipis dan akumulasi produk metabolik menghambat aktivitas sel, pertumbuhan sel melambat sehingga laju pembelahan menjadi seimbang dengan laju kematian sel. Akibatnya, jumlah total populasi bakteri tetap konstan meskipun aktivitas metabolik masih berlangsung di beberapa sel. Fase stasioner juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti akumulasi metabolit toksik atau perubahan pH medium.

4. Death Phase (Fase Kematian / Decline)

Setelah fase stasioner, ketika sumber nutrisi semakin habis dan kondisi lingkungan menjadi tidak mendukung, laju kematian sel melebihi laju pembelahan sel baru. Hal ini menyebabkan penurunan jumlah sel hidup secara signifikan. Fase kematian merupakan tanda bahwa populasi bakteri mengalami penurunan viabilitas sebagai respons terhadap stres nutrisi dan akumulasi produk samping metabolisme (Ughy et al., 2023).

B. Kerangka Teori



Sumber: Hidayati et al., 2024; Wihansah et al., 2018

Gambar 3. Kerangka Teori

C. Hipotesis

H0: Tidak ada Perbedaan Media Nutrient Broth Dengan Penambahan Glukosa 0,3% dan Tanpa Glukosa Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*

H1: Ada Perbedaan Media Nutrient Broth Dengan Penambahan Glukosa 0,3% dan Tanpa Glukosa Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*

