

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### **1. Kebutuhan Nutrisi Mikroorganisme**

Bakteri membutuhkan berbagai elemen nutrien untuk pertumbuhan dan sintesis. Nutrien tersebut didapatkan secara bebas (unsur bebas), maupun berasal dari pemecahan molekul suatu senyawa oleh bakteri tersebut.

###### **a. Karbon**

Glukosa, sebagai salah satu sumber karbon, menunjang metabolisme fermentasi dan respirasi berbagai bakteri. Penyediaan nutrisi harus diformulasikan pada kadar tertentu dengan tujuan menumbuhkan suatu organisme (target) dan menghambat pertumbuhan organisme lain (Brooks *et al.*, 2019).

###### **b. Nitrogen**

Unsur ini merupakan penyusun makromolekul selular, seperti protein dan asam nukleat. Protein menyusun enzim yang berperan dalam aktivitas metabolisme sel. Beberapa bakteri memanfaatkan nitrogen bebas, sedangkan yang lain menggunakan nitrogen pada senyawa, seperti ammonium (Cappucino and Welsh, 2021).

###### **c. Unsur non-logam**

###### **1) Sulfur**

Hampir sama dengan nitrogen, sulfur merupakan komponen dari berbagai substansi organik sel. Sulfur merupakan bagian dari koenzim. Sulfur merupakan protein integral penyusun asam amino. Banyak mikroorganisme yang menggunakan sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) sebagai sumber sulfur. Beberapa mikroorganisme mengasimilasi  $\text{H}_2\text{S}$  dari media pertumbuhan, tetapi senyawa ini dapat bersifat toksik bagi mikroorganisme lain (Cappucino and Welsh, 2021).

## 2) Sumber fosfor

Fosfor berperan dalam pembentukan asam nuklet DNA dan RNA serta sintesis Adenosine Triphosphate (ATP), yakni sumber energi untuk sel. Pada beberapa metabolisme, fosfat selalu diasimilasi sebagai fosfat bebas anorganik (Cappucino and Welsh, 2021).

### d. Unsur logam

Unsur logam merupakan ion penting yang digunakan bakteri untuk mendukung aktivitas seluler, seperti, osmoregulasi, regulasi enzim, serta transport elektron. Ion termasuk mikronutrien dan hanya dibutuhkan dalam jumlah sedikit. Mikronutrien ini bersumber dari garam anorganik (Cappucino and Welsh, 2021).

### e. Vitamin

Bakteri membutuhkan vitamin untuk pertumbuhan sel dan penting (dalam jumlah kecil) untuk aktivitas sel. Vitamin juga sumber dari koenzim yang diperlukan untuk mengaktifkan sistem enzim. Beberapa bakteri membutuhkan vitamin untuk memulai aktivitas metabolisme (Cappucino and Welsh, 2021).

f. Air

Semua makhluk hidup membutuhkan air untuk berkembang dan bertahan hidup. Air berfungsi sebagai dekompositor bahan organik (Cappucino and Welsh, 2021).

Terdapat tiga faktor fisik yang memengaruhi pertumbuhan dan proses bertahan hidup suatu organisme, yakni temperatur, pH, dan kebutuhan oksigen.

a. Temperatur

Suhu memengaruhi keberlangsungan reaksi kimia pada reaksi enzimatik sel. Bakteri dapat bertahan hidup dan berkembang dengan temperatur yang sesuai. Terdapat rentang suhu tertentu bakteri dapat bertahan hidup. Suhu yang rendah menghambat kerja enzim sehingga menghalangi metabolisme sel yang berpengaruh pada pertumbuhan sel. Suhu tinggi menyebabkan denaturasi enzim. Selain itu, suhu tinggi yang ekstrem mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan kematian sel. Berdasarkan rentang temperatur untuk bertahan hidup, bakteri digolongkan sebagai berikut.

1) Bakteri Psikrofil

Bakteri yang dapat hidup di suhu rendah antara 0°C hingga 30°C dengan suhu optimum untuk bertahan hidup sekitar 15°C.

2) Bakteri Mesofil

Bakteri ini dapat bertahan hidup di suhu 15°C hingga 55°C dengan suhu optimum 25°C hingga 40°C.

3) Bakteri Termofil

Bakteri tipe ini dapat bertahan hidup di suhu yang cukup tinggi, yakni antara 40°C hingga 75°C dengan suhu optimal untuk tumbuh sekitar 50°C hingga 65°C.

4) Bakteri Hipertermofil

Bakteri tipe ini hidup di suhu sangat tinggi sekitar 65°C hingga 114°C dengan suhu optimal sekitar 88°C (Cappucino and Welsh, 2021).

b. pH

Tingkat keasamaan lingkungan ekstraselular memengaruhi aktivitas enzimatik. Umumnya, pH optimum untuk metabolisme sel berada di rentang netral, yakni 7. Peningkatan konsentrasi ion hydrogen, menyebabkan penurunan pH (menjadi asam), dan penurunan konsentrasi ion hidrogen menyebabkan peningkatan pH (menjadi alkali) biasanya merugikan bagi bakteri. Peningkatan dan penurunan pH

menghambat reaksi kimia yang bersifat destruktif pada enzimatis selular. Hal ini berefek pada laju pertumbuhan sel, bahkan mekanisme pertahanan hidup bakteri (Cappucino and Welsh, 2021).

c. Kebutuhan oksigen

Kebutuhan gas pada kebanyakan sel terpenuhi dengan penggunaan oksigen bebas (*atmospheric oxygen*) yang digunakan pada proses biooksidatif. Oksigen berperan penting dalam pembentukan ATP, penyedia energi untuk aktivitas sel. Pada beberapa organisme, kekurangan oksigen menyebabkan terbentuknya jalur fermentasi pada fase anaerob (Cappucino and Welsh, 2021).

## 2. Media Pertumbuhan Bakteri

Mikroorganisme bergantung pada ketersediaan nutrisi dan lingkungan untuk tumbuh dan bertahan hidup. Di laboratorium mikrobiologi klinik, nutrisi yang digunakan untuk kultur bakteri disebut media. Media adalah campuran nutrisi atau zat yang dibutuhkan bakteri untuk hidup dan berkembang. Selain itu, media juga digunakan untuk pengujian fisiologi dan biokimia (Harley and Prescott, 2024). Media pertumbuhan mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri untuk melakukan metabolisme. Nutrisi pada media pertumbuhan bakteri mengandung berbagai unsur yang penting untuk sintesis organisme baru (Brooks *et al.*, 2019).

Media kultur bakteri mengandung komponen-komponen yang dapat menunjang kehidupan dan pertumbuhan bakteri. Beberapa komponen ditambahkan untuk membedakan grup atau spesies bakteri. Mikroorganisme yang berbeda membutuhkan material nutrisi yang berbeda pula. Media kultur berperan dalam isolasi mikroorganisme menjadi kultur murni (Collins *et al.*, 2004).

a. Amino-Nitrogen Nutrien

Protein hidrolisat (peptone) mengandung molekul yang kaya akan energi. Komponen ini merupakan nutrien umum yang bisa digunakan oleh semua bakteri (bersifat universal) (Collins *et al.*, 2004).

b. Sumber energi

Sumber energi yang ditambahkan di media biasanya berupa glukosa atau penambahan karbohidrat. Pepton juga bisa menunjang kebutuhan energi yang berasal dari tumbuhan (Collins *et al.*, 2004)

c. Faktor Pertumbuhan

Beberapa organisme *fastidious* membutuhkan penambahan komposisi untuk menstimulasi pertumbuhan, misalnya, darah, serum, dan kompleks vitamin. Pada beberapa bakteri, seperti *Neisseria*, penambahan darah berperan sebagai agen perlindungan untuk melawan radikal oksigen daripada sebagai nutrien suplemen (Collins *et al.*, 2004).

d. *Buffer Salt*

Magnesium fosfat dan garam sitrat umumnya ditambahkan pada media kultur yang mengandung karbohidrat untuk menjaga keseimbangan pH ketika menumbuhkan mikroorganisme yang fermentatif (Collins *et al.*, 2004).

e. Garam mineral dan logam

Media universal harus mengandung sumber garam mineral dan logam yang adekuat untuk pertumbuhan berbagai bakteri. Penambahan garam dan logam dibatasi dalam media kultur yang selektif (Collins *et al.*, 2004).

f. Agen selektif

Senyawa kimia, antibiotik, dan inhibitor ditambahkan secara terpisah pada media selektif. Agen selektif akan menyeleksi organisme yang tumbuh. Setiap media selektif memiliki keterbatasan. Tujuan utama media selektif adalah menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan serta memungkinkan pertumbuhan mikroorganisme target. Namun, pada praktiknya, tidak semua mikroba yang tidak diinginkan berhasil dihambat serta tidak semua mikroba target berhasil tumbuh. Efektivitas antibiotik dalam media juga bisa berkurang karena interaksi dengan komponen lain, seperti albumin (Collins *et al.*, 2004).

g. Pewarna indikator

Pewarna *phenol red*, *neutral red*, dan *bromocresol purple* ditambahkan pada media kultur untuk menadalan perubahan pH selama pertumbuhan. Beberapa pewarna biasanya tidak berwarna dan bekerja sebagai akseptor elektron. Indikator hanya akan muncul ketika terjadi pertumbuhan bakteri. Pewarna dapat bersifat toksik jika konsentrasinya terlalu tinggi. Ketidaktumbuhan mikroba bukan berarti mikroba tidak ada, bisa jadi karena terhambat toksisitas pewarna (Collins *et al.*, 2004).

#### h. *Gelling agent*

Agar merupakan agen yang paling sering digunakan karena bersifat natural dan lebih menguntungkan daripada gelatin dan alginate. Agar juga tidak reaktif serta mengandung logam, mineral, sulfat, dan piruvat. Meskipun demikian, agar berpotensi mengikat air dan menghambat pertumbuhan organisme (Collins *et al.*, 2004).

Media kultur untuk pertumbuhan bakteri dapat diklasfikasikan berdasarkan bentuk, susunan atau komposisi kimia, serta fungsinya (Atmanto, Asri and Kadir, 2022).

#### a. Berdasarkan bentuk

##### 1) Media padat atau solid

Media ini mengandung 15% agar sehingga berbentuk padat setelah dingin. Media padat digolongkan menjadi tiga berdasarkan bentuk dan wadahnya. Media tegak menggunakan tabung reaksi yang ditegakkan sebagai wadahnya. Media miring

menggunakan tabung reaksi yang dimiringkan. Media lempeng menggunakan *petridish (plate)* sebagai wadahnya.

2) Media semi padat atau semi solid

Media ini mengandung 0,3 % hingga 0,4% agar sehingga sedikit kenyal. Media semi solid bertujuan agar mikroba yang tumbuh menyebar ke seluruh media, tetapi tidak mengalami pencampuran sempurna jika digoyangkan. Media ini juga mencegah difusi oksigen.

3) Media Cair

Media ini tidak diberi penambahan agar atau pematat. Media ini biasanya digunakan untuk pertumbuhan bakteri dari darah atau air. Media ini kurang baik untuk isolasi dari tipe bakteri yang berbeda serta sukar untuk mempelajari koloni bakteri yang tumbuh.

b. Berdasarkan susunan atau komponen kimia

1) Media alami

Media dengan komposisi bahan-bahan alami dan langsung diekstrak dari bahan dasar, seperti daging dan telur. Contohnya, *brain heart infusion agar* dan *pancreatic extract*.

2) Media semi sintetis

Media yang dibuat dari bahan-bahan alami dan bahan yang disintesis. Misalnya, PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang mengandung agar dekstroza dan ekstrak kentang.

### 3) Media sintetis

Media yang disusun dari senyawa kimia yang jenis dan takarannya diketahui secara pasti. Media ini tersusun dari bahan-bahan sintetis. Contohnya, Mac Conkey agar.

### c. Berdasarkan fungsi

#### 1) Media basal

Media ini digunakan sebagai bahan dasar untuk membuat media lain yang lebih kompleks. Media ini memungkinkan pertumbuhan semua jenis mikroorganisme. Misalnya, *nutrient broth* dan *peptone broth*.

#### 2) Media non-selektif

Media ini disebut juga media universal. Media ini digunakan untuk pertumbuhan berbagai jenis mikroba dengan tingkat kecepatan cukup tinggi. BHIB dan *nutrient agar* digunakan untuk memperbanyak kuman yang akan diidentifikasi lebih lanjut.

#### 3) Media selektif

Media ini memungkinkan pertumbuhan mikroorganisme target dengan penambahan inhibitor, seperti antibiotik atau garam empedu. Media ini menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Contohnya, Thayer Martin dan Lowenstein-Jensen.

#### 4) Media diferensial

Media ini membedakan organisme atau kelompok organisme yang berkaitan. Penambahan zat tertentu menunjukkan perubahan karakteristik pada pola pertumbuhan bakteri yang dapat diidentifikasi berdasarkan diferensiasinya. Perbedaan karakter ini digunakan untuk dasar proses identifikasi selanjutnya. Contohnya, *Mac Conkey*, *Mannitol Salt Agar* (MSA), dan *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA).

#### 5) Media diperkaya

Media ini digunakan untuk menunjang pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Media ini ditambahkan bahan-bahan tertentu menstimulasi pertumbuhan mikroorganisme yang jumlahnya relatif sedikit dalam suatu campuran mikroba (belum isolat). Contohnya, *alkali peptone water* dan *Yeast-Extract-potasium Nitrat Agar* (Atmanto, Asri and Kadir, 2022).

### 3. Fase Hidup Bakteri

Pertumbuhan populasi bakteri bergantung pada adanya nutrisi, lingkungan, dan berbagai faktor pertumbuhan lainnya. Laju pertumbuhan bakteri bervariasi. Siklus pembelahan dan penggandaan populasi suatu spesies dapat terjadi selama beberapa menit, sedangkan spesies yang lain membutuhkan waktu beberapa hari. Pertumbuhan bakteri pada kultur didefinisikan sebagai jumlah populasi bakteri (koloni), bukan sel secara individual. Pertumbuhan populasi bakteri terjadi dengan pola geometris atau eksponensial, dengan setiap siklus

pembelahan (generasi). Misalnya, satu sel berkembang menjadi 2 sel, lalu 4 sel, lalu 8 sel, dan begitu seterusnya (Rogers, 2010).

Secara umum, pertumbuhan bakteri dikategorikan menjadi empat fase, yakni fase lag, fase log atau ekponensial, fase stasioner, dan fase kematian.

a. Fase lag

Fase lag merupakan periode adaptasi setelah bakteri dipindahkan ke lingkungan baru. Sel bakteri tidak langsung membelah karena menyesuaikan diri secara metabolik. Pada fase ini, bakteri tidak langsung berkembang biak (Brooks *et al.*, 2019). Fase ini disebut fase penyesuaian, biasanya berlangsung selama 2 jam. Fase ini merupakan fase persiapan untuk fase selanjutnya (Syahrurachman and Chatim, 2012).

b. Fase eksponensial

Pada fase ini, bakteri berada dalam *steady state*. Bakteri tumbuh dan membelah secara konstan dan optimal. Fase ini adalah fase paling aktif dalam siklus bakteri. Fase ini akan terus berlanjut hingga nutrisi pada medium habis atau sisa metabolisme bakteri yang terakumulasi menjadi toksik dan menghambat pertumbuhan bakteri. Fase ini biasanya dimanfaatkan untuk melanjutkan kultur ke media yang lain. Fase ini berlangsung selama 18 hingga 24 jam (Brooks *et al.*, 2019).

c. Fase Stasioner

Peningkatan jumlah kuman meningkatkan jumlah hasil metabolisme yang toksik. Kuman mulai mati dan pembelahan terhambat (Syahrurachman and Chatim, 2012). Setelah fase ekponensial, nutrisi dalam media mulai habis. Meskipun pertumbuhan terhenti, fase stasioner bukan fase diam total. Pada fase ini, terjadi proses kematian sel secara perlahan, tetapi juga masih ada fase pertumbuhan dan pembelahan baru sehingga terbentuk keseimbangan jumlah antara sel yang mati dan sel yang terbentuk (Brooks *et al.*, 2019).

d. Fase kematian

Setelah fase stasioner berlangsung cukup lama, jumlah nutrisi semakin habis dan sisa metabolisme yang toksik semakin menumpuk. Akibatnya, laju kematian meningkat dibandingkan pertumbuhan sel. Meskipun demikian, bakteri masih dapat hidup melalui nutrisi yang dilepaskan oleh sel-sel yang mati dan lisis. Fase ini juga menjadi penyebab fenomena VBNC (*Viable But Not Culturable*). Fenomena ini merupakan fase sel bakteri masih hidup, tetapi tidak bisa tumbuh di kultur biasa. Fase ini menyebabkan bakteri dalam bentuk vegetatif, tetapi dorman (Brooks *et al.*, 2019).

#### 4. Media *Blood Agar Plate*

Media agar darah atau *Blood Agar Plate* (BAP) merupakan media non-selektif. Media ini mendukung pertumbuhan banyak jenis bakteri.

Penanaman pada media ini bertujuan menumbuhkan banyak spesies sehingga menghasilkan berbagai jenis koloni bakteri (Brooks *et al.*, 2019). Media BAP termasuk media diferensial dan diperkaya. Media ini digunakan untuk kultivasi semua jenis bakteri. Media ini membedakan bakteri hemolitik dan non-hemolitik. Media BAP diperkaya karena adanya penambahan darah sebagai sumber nutrisi untuk bakteri *fastidious* (Harley and Prescott, 2024).

Darah domba sebagai sumber darah media BAP termasuk *whole blood*. Nilai hematokrit darah domba sekitar 28% hingga 43% (Brooks *et al.*, 2022). Penelitian di Indonesia menyebutkan nilai normal hematokrit darah domba sekitar 24% hingga 45% (Kamil, 2020). Produk PRC darah donor mengandung hematokrit 65% hingga 75% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016). Penelitian menunjukkan hematokrit produk PRC terus mengalami penurunan. Kadar hematokrit Produk PRC penyimpanan 21 hari 65,6%, penyimpanan 28 hari 63,6%, dan penyimpanan 35 hari 61,4% (Adawiyah *et al.*, 2025). Nilai hematokrit PRC kedaluwarsa lebih tinggi daripada darah domba.

Bakteri *fastidious* membutuhkan tambahan nutrisi. Penambahan darah merupakan *gold standar*. Bakteri *fastidious* sukar tumbuh di media universal tanpa *enrichment*. Bakteri *fastidious* bersifat auksotrof. Penambahan darah pada media basal memiliki peran untuk menyediakan nutrisi tambahan yang tidak bisa dihasilkan mandiri oleh

bakteri. Sel darah merah mengandung enzim katalase, enzim peroksidase, zat besi, beberapa asam amino, dan purin. Zat tersebut mendukung pertumbuhan bakteri *fastidious* (Murray, Rosenthal and Pfaller, 2016).

Berdasarkan sifat hemolitiknya, bakteri yang tumbuh pada media BAP diklasifikasikan menjadi tiga golongan:

a) Alfa hemolisis

Bakteri ini membentuk warna kehijauan pada zona hemolisisnya. Bakteri tipe ini termasuk hemolisis parsial. Toksin *hemolysin* bakteri ini tidak sekuat golongan beta hemolisis. Contoh: *Streptococcus pneumoniae*.

b) Beta hemolisis

Bakteri ini menghancurkan sel darah merah dengan sempurna. Zona yang ditumbuhi koloni berwarna bening. Bakteri ini memiliki toksin *hemolysin* yang sangat kuat. Contohnya: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Streptococcus agalactiae*.

c) Gamma hemolisis

Bakteri golongan ini tidak menghancurkan sel darah merah. Zona di sekitar koloni tidak mengalami perubahan. Bakteri ini tidak mensekresi enzim *hemolysin*. Contoh: *Streptococcus hominis*.

## 5. *Packed Red Cell (PRC)*

Darah merah pekat (PRC) merupakan produk dari *whole blood* yang disentrifugasi. Plasma yang telah terpisah dikeluarkan dari kantong darah. Isi utama produk PRC adalah eritrosit. Produk ini disimpan dengan suhu  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Produk PRC disimpan tidak lebih dari 35 hari dengan antikoagulan *Citrate Phosphate Dextrose-Adenine* (CPDA) (Maharani and Noviar, 2018). Eritrosit berperan dalam transport oksigen dan karbon dioksida. Eritrosit memiliki masa hidup eritrosit 120 hari. Eritrosit mengandung hemoglobin. Hemoglobin berperan dalam pertukaran gas oksigen dari sel ke jaringan (Doda *et al.*, 2020).

Darah yang telah disimpan 35 hari tidak bisa ditransfusikan ke pasien meskipun masa hidupnya 120 hari. Darah yang telah melewati masa simpan mengalami perubahan secara hematologi. Selama penyimpanan, eritrosit mengalami perubahan bentuk karena berkurangnya ATP pada eritrosit. Stres oksidatif memengaruhi perubahan membran eritrosit. *Reactive Oxygen Species* (ROS) memicu reaksi peroksidasi lipid yang merusak integritas membrane dan kematian eritrosit (Obeagu, Igwe and Obeagu, 2024). Perubahan pada sel darah merah selama penyimpanan berefek pada efektivitas dan fungsinya terhadap oksigenisasi jaringan. Menurut penelitian yang telah dilakukan, perubahan bentuk eritrosit abnormal meningkat seiring pertambahan waktu penyimpanan (Isti, Rofinda and Husni, 2018).

Produk PRC dan darah domba (*whole blood*) memiliki perbedaan tingkat hematokrit. Produk *Packed Red Cell* mengandung densitas

eritrosit yang sangat tinggi. Konsentrasi 5% *whole blood* terbukti memadai dan efektif untuk mendukung pertumbuhan dan zona hemolisis bakteri. Penggunaan PRC sebagai substituen sumber darah perlu disesuaikan. Penambahan PRC dengan konsentrasi di bawah 5% bertujuan menyeimbangkan jumlah sel darah merah sehingga ekuivalen dengan *whole blood* (Niederstebruch *et al.*, 2017).

Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD) terjadi ketika darah yang terinfeksi virus, bakteri, atau parasite diberikan kepada resipien melalui transfusi. Darah lengkap (*whole blood*) dilakukan uji saring IMLTD sebelum dilanjutkan pemisahan komponen. Uji saring dilakukan dengan reagensia yang sangat sensitif. Metode yang dilakukan dalam uji saring, antara lain, *Enzym Immunoassay* (EIA), *Chemiluminescent Immunoassay* (CLIA), *Rapid/Simple single use assay* (*Rapid Test*), serta NAT (*Nucleic Acid Based Test*). Darah yang telah lolos uji saring dapat ditransfusikan kepada pasien (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2023).

## 6. Darah domba

Penambahan agar darah domba pada media basal merupakan *gold standar* dalam kultivasi bakteri *fastidious*. Media basal ditambahkan 5%-10% darah domba sebagai sumber nutrisi. Penambahan darah domba dilakukan untuk observasi zona hemolisis (Nurhidayanti and Sari, 2022). Media agar darah domba 5% ditetapkan sebagai media standar untuk kultivasi bakteri (Brooks *et al.*, 2019). Menurut penelitian,

penambahan darah domba 5% menunjukkan pertumbuhan koloni yang baik dan optimal. Koloni bulat keabuan dan diameter koloni kurang dari 1 mm. Koloni membentuk zona hemolisis yang jelas (Juariah *et al.*, 2019). Media agar darah ditambahkan darah domba yang telah didefibrinasi. Darah domba yang telah ditambahkan antikoagulan, untuk mencegah pembekuan, juga dapat dijadikan sebagai sumber darah. (Turista dan Puspitasari, 2019). Pada penelitian ini, media dengan konsentrasi darah domba 5% dijadikan sebagai pembanding penelitian.

#### 7. Bakteri uji *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

ATCC menjadi *gold standard* karena menjamin mutu, keamanan, dan keterbandingan hasil. Bakteri strain *American Type Culture Collection* digunakan sebagai penentu validitas media pertumbuhan bakteri. ATCC digunakan dalam penelitian karena menyediakan strain mikroorganisme dan sel standar yang terverifikasi secara internasional sehingga penelitian dapat dipercaya, konsisten, dan mudah diproduksi. Metode uji klinis mikrobiologi mensyaratkan penggunaan strain ATCC sebagai pengendalian mutu. Peneliti dapat membandingkan hasil eksperimen dengan penelitian lain di seluruh dunia, meningkatkan kredibilitas publikasi, serta memenuhi persyaratan regulasi dalam validasi metode dan pengembangan produk (Hong *et al.*, 2015).

Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Filum : *Bacillota*

Kelas : *Bacilli*  
Ordo : *Lactobacillales*  
Famili : *Streptococcaceae*  
Genus : *Streptococcus*  
Spesies : *S. pyogenes*

(Abusaiba, Hussein and Almahbob, 2023)

*Streptococcus pyogenes* termasuk bakteri gram positif, anaerob fakultatif, nonmotil, tidak menghasilkan spora, dan memiliki diameter 0,5-1,0  $\mu\text{m}$  (Al-Bermani, Al-Kaim and Saad, 2020). Media kultivasi *Streptococcus pyogenes* yang direkomendasikan adalah agar darah. Pada agar darah, koloni bakteri ini keruh, menonjol, dan tepiannya halus. Koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* berdiameter 0,5 mm dan dikelilingi oleh zona  $\beta$  hemolisis (Harley and Prescott, 2024). Suhu optimal pertumbuhan bakteri ini antara 35°C hingga 37°C. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada pH 7.2 hingga 7.5. Pertumbuhan bakteri ini cukup lambat. *Streptococcus pyogenes* membutuhkan 10-20 jam untuk replikasi (Abusaiba, Hussein and Almahbob, 2023).

*Streptococcus pyogenes* (Grup A *Streptococcus*) memiliki substansi karbohidrat antigen A di dinding selnya. Mikroorganisme ini memproduksi *Streptolysin*. Toksin ini mengakibatkan lisis sel darah merah secara in vitro. Toksin ini menyebabkan terbentuknya zona jernih tanpa perubahan warna pada agar darah sehingga disebut  $\beta$  hemolisis. Toksin ini diinterpretasikan oleh koloni yang tumbuh di dalam agar.

Toksin ini menyebabkan produksi *anti-streptolysin O titration* pada sistem kekebalan (Harley and Prescott, 2024).

*Streptococcus pyogenes* flora normal di tenggorokan dan kulit. *Streptococcus pyogenes* patogen menyebabkan berbagai infeksi. Bakteri ini menyebabkan faringitis, selulitis, *acute rheumatic fever*, dan *rheumatic heart disease*. Infeksi *invasive* menyebabkan bakteremia dan meningitis. Grup A *Streptococcus* salah satu dari sepuluh penyebab kematian akibat infeksi. Hal tersebut menjadi beban kesehatan global yang signifikan di negara-negara miskin dan berkembang. Penyebab utama kematian karena bakteri ini mengakibatkan autoimun (Wang *et al.*, 2023).

## **8. Metode kultivasi bakteri pada media cawan**

### **a) *Spread plate***

Metode cawan tabur (*spread plate*) adalah teknik penanaman dengan menyebarkan suspensi bakteri di seluruh permukaan agar. Suspensi bakteri diambil dari koloni isolate murni (Ainutajriani, Artanti and Rohmayani, 2023). Cara ini dilakukan dengan mengencerkan biakan organisme (Utami and Indrayanti, 2023).

### **b) *Streak plate***

Metode ini bertujuan mengisolasi mikroorganisme dari suatu campuran. *Streak plate* digunakan untuk meremajakan kultur ke medium baru. Metode cawan gores umumnya digunakan untuk mengisolasi mikroba sehingga mendapatkan biakan murni

(Ainutajriani, Artanti and Rohmayani, 2023). Cara ini dilakukan dengan menggoreskan suspensi pada media padat dengan ose (Utami and Indrayanti, 2023).

c) *Pour plate*

Metode ini memungkinkan bakteri terdistribusi merata secara menyeluruh pada media. Cara ini akan menyebarkan sel-sel bakteri tidak hanya pada permukaan agar, tetapi juga terendam (di dalam) agar. Metode ini mendukung pertumbuhan mikroba anaerobik fakultatif. Metode ini efektif untuk mendeteksi jumlah mikroba yang sangat sedikit di dalam sampel (Ainutajriani, Artanti and Rohmayani, 2023).

## 9. Uji Performa Media

Uji ini digunakan untuk membandingkan performa media alternatif terhadap media standar. Jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang tumbuh pada *Blood Agar Plate* domba dan PRC dibandingkan dengan rumus *productivity* sesuai 7.2.1.1 ISO 11133:2014. Rumus *produkctivity*, sebagai berikut,

$$P_R = \frac{N_s}{N_o}$$

Rasio produktivitas ( $P_R$ ) didapatkan dari perbandingan rerata jumlah koloni yang tumbuh pada media kultur yang diuji ( $N_s$ ) dengan rerata jumlah koloni yang tumbuh pada media kultur standar ( $N_o$ ). Jumlah koloni yang tumbuh pada media kultur standar pada rentang 100-150 cfu. Media dikategorikan sebanding jika rasio produktivitas berada pada

rentang 0,70 hingga 1,4 berdasarkan klausul 7.2.2.1.2 tentang *Calculation and Interpretation of Results* poin (a) ISO 11133:2014.

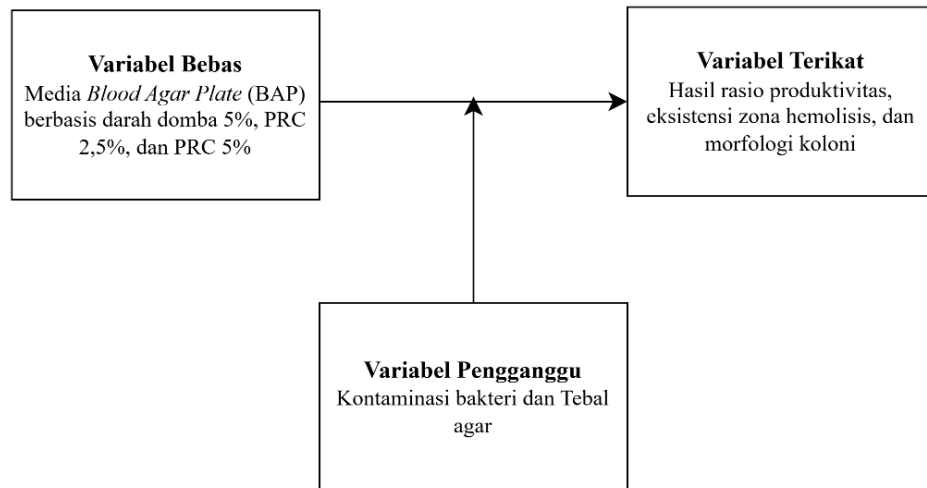
Zona hemolisis dihasilkan oleh bakteri yang memproduksi hemolysin. Terbentuknya zona bening pada media BAP menunjukkan bakteri kategori patogen agresif di laboratorium mikrobiologi klinik. Bakteri yang tergolong  $\beta$ -hemolisis menghasilkan zona *clear* di sekitar koloni. Media *Blood Agar Plate* termasuk media universal dan diferensial. Pengamatan zona hemolisis bertujuan memverifikasi kemampuan diferensiasi media secara spesifik. Koloni bakteri yang sama menunjukkan hasil yang sama. (Wardani, 2021).

## B. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori Penelitian

### C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 2. Hubungan Antar Variabel

### D. Hipotesis

Performa media BAP berbasis PRC 2,5% dan 5% sebanding dengan BAP domba 5% sehingga berpotensi sebagai media alternatif.