

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri gram positif, berbentuk khas diplokokus, anaerob fakultatif, serta dapat bersifat alfa-hemolitik. Bakteri ini non motil dan tidak bersepora dalam kapsul polisakarida. *Streptococcus pneumoniae* memiliki persamaan dengan spesies streptococcus lainnya yaitu tidak memiliki enzim katalase dan dapat memfermentasi glukosa menjadi asam laktat. Namun, *Streptococcus pneumoniae* tidak memiliki protein M, menghidrolisis insulin, dan dinding selnya terdiri dari peptidoglikan dan asam teichoic (Fauziah, 2023).

Streptococcus pneumoniae pada kultur BAP, tumbuh koloni dengan zona alfa-hemolisis mengelilingi bakteri dan menunjukkan adanya kapsul polisakarida di sekitarnya. *Streptococcus pneumoniae* larut dalam garam empedu, sensitif terhadap optochin, dan memiliki sifat autolitik. Koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media Blood Agar Plate (BAP) akan membentuk warna keabu-abuan, muoid atau basah, memiliki cekungan ditengah koloni dan dikelilingi oleh zona hijau akibat aktivitas alfa-hemolitik (Safari, dkk., 2023).

a. Klasifikasi Taksonomi *Streptococcus pneumoniae*

Taksonomi *Streptococcus pneumoniae* diklasifikasikan sebagai berikut (Jawetz et al., 2005).

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Diplococcic

Ordo : Lactobacillales

Familia : Streptococcoeae

Genus : Streptococcus

Spesies : *Streptococcus pneumoniae*

b. Morfologi dan Karakteristik *Streptococcus pneumoniae*

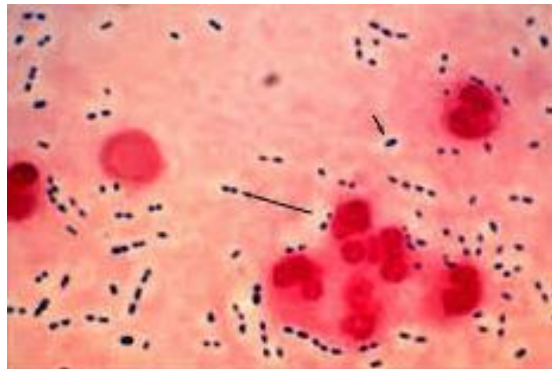
Streptococcus pneumoniae adalah Gram positif, berbentuk bulat telur atau seperti bola, penghuni normal dari saluran pernapasan bagian atas manusia dan dapat menyebabkan pneumonia, sinusitis, otitis, bronkhitis, bakteremia, meningitis, dan proses infeksi lainnya. Serangan *Pneumonia pneumococcus* biasanya mendadak demam, menggigil, dan nyeri pleura yang nyata. Pada awal penyakit, ketika demam tinggi, terdapat bakteremia dalam 10-20% kasus. Pneumonia yang disertai bakteremia selalu menyebabkan angka kematian yang paling tinggi. Penggunaan terapi antimikroba, penyakit dapat sembuh secara bertahap, bila diberikan dari awal, maka konsolidasi dapat dihalangi (Jawetz dkk., 2005).

Streptococcus Kebanyakan tumbuh dalam pembenihan padat sebagai koloni diskoid dengan diameter 1-2 mm. Strain yang menghasilkan bahan simpai sering membentuk koloni mucoid. pertumbuhan *Streptococcus* cenderung menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau dalam kaldu, kecuali yang diperkaya dengan

darah atau cairan jaringan. Pertumbuhan dan hemolisis dibantu oleh pengeraman dalam CO₂ 10%. Kebanyakan *Streptococcus* patogen tumbuh paling baik pada suhu 37° C (Saputro, 2013). Koloni *Streptococcus pneumoniae* ditunjukkan pada Gambar 1. dan Sel bakteri *Streptococcus pneumoniae* dengan pewarnaan Gram mikroskopis ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 1. Koloni *Streptococcus pneumoniae* pada media BAP
Sumber. <https://share.google/images/VRPeVfRjqhkFJBx6o>



Gambar 2. Sel bakteri *Streptococcus pneumoniae* dengan pewarnaan Gram
Sumber. <https://share.google/images/JQSbBtA3QzQeKve7F>

c. Kondisi pertumbuhan optimal

Streptococcus pneumoniae perlu media dengan pH optimum 7,6 untuk pertumbuhan terbaik. Bakteri ini tumbuh aerob dan fakultatif anaerob. Suhu pertumbuhan optimum 37°C. Glukosa meningkatkan multiplication rate-nya, tetapi bertambahnya asam laktat selain menghambat dapat pula membunuhnya, kecuali bila dalam pembenihan ditambah kalsium karbonat 1% untuk menetralkannya.

d. Pola Hemolisis *streptococcus pneumoniae* pada media BAP

Streptococcus pneumoniae merupakan jenis bakteri yang dapat menghasilkan zona kehijauan pada media Blood Agar Plate (BAP) yang biasa disebut dengan alfa-hemolisis. Zona alfa-hemolisis yang terbentuk pada media Blood Agar Plate (BAP) dapat dihubungkan dengan aktivitas hemolitik *pneumococcal pneumolysin* (Ply) ataupun dapat dihubungkan dengan lisisnya eritrosit oleh hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh bakteri *Streptococcus pneumoniae* (McDevitt, dkk., 2020).

2. Media Pertumbuhan Bakteri

Media pertumbuhan Bakteri adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Media kultur digunakan sebagai gold standard 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. Media kultur yang baik, yaitu media kultur yang mudah disiapkan, murah, mudah dibuat, dan mudah diaplikasikan (Atmanto dkk, 2022).

a. Macam – macam Media

Media pertumbuhan bakteri dibedakan berdasarkan fisiknya, antara lain (Erkmen, 2021):

1) Media Cair

Media cair adalah media pertumbuhan bakteri yang tidak mengandung zat pematat atau agar dan biasanya terbuat dari bahan-bahan bernutrisi, seperti pepton, ekstrak ragi, garam anorganik, dan air suling. Media cair bisa digunakan untuk pertumbuhan berbagai jenis bakteri.

2) Media Padat

Media padat adalah media pertumbuhan bakteri yang mengandung zat pematat seperti agar-agar dan dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri, khamir, dan kapang.

3) Media Semi padat

Media semi padat adalah media pertumbuhan bakteri yang mengandung zat pematat dalam jumlah yang lebih sedikit daripada media padat. Media semipadat umumnya dapat

digunakan untuk tujuan khusus, seperti pemindahan kultur dan indikasi motilitas.

b. Jenis Media Berdasarkan fungsi

Media kultur berdasarkan fungsinya yang sering digunakan dalam laboratorium, yaitu (Atmanto dkk, 2022) :

1) Media Basal

Media yang digunakan sebagai bahan dasar untuk membuat media lain yang lebih kompleks. Media ini dapat mendukung pertumbuhan hampir semua jenis mikroba. Komposisi media basal umumnya mengandung sumber karbon, sumber nitrogen, garam anorganik dan air. contohnya, NA, kaldu protein, dsb.

2) Media Non Selektif

Digunakan untuk berbagai jenis mikroorganisme dengan tingkat kecepatan pertumbuhan yang relatif tinggi. Memiliki komposisi dasar sumber karbon, nitrogen, mineral dan air. Dan menggunakan bahan kompleks seperti pepton, ekstrak daging, ekstrak ragi, dan NaCL. Contohnya, BHIP dan NA.

3) Media Selektif

Media yang memungkinkan beberapa jenis organisme untuk tumbuh dan menghambat pertumbuhan organisme lain. Selektif dicapai dengan beberapa cara seperti, memanfaatkan gula sebagai satu – satunya sumber karbon dengan

menambahkann gula dalam medium, penambahan zat pewarna, antibiotic, garam atau inhibitor spesifik yang mempengaruhi metabolisme atau system enzim organisme. Contoh, MacConkey Agar, Lowenstein Jansen Agar

4) Media Diferensial

Digunakan untuk membedakan organisme atau kelompok organisme yang terkait erat. Adanya zat pewarna atau bahan kimia tertentu di dalam media akan menghasilkan perubahan karakteristik atau pola pertumbuhan organisme yang digunakan untuk identifikasi dan diferensiasi. Karakter tersebut dapat berupa warna dan bentuk dari koloni. Perbedaan karakter ini menjadi tahap yang sangat penting dalam proses diferensiasi dan dasar untuk proses identifikasi selanjutnya. Media diferensial umumnya mengandung nutrisi dasar seperti pepton, ekstrak daging, karbohidrat, garam, pH buffer dan laktosa. Contoh, Manitol Salt Agar, Mac Conkey Agar, EMBA, dan Blood Agar Plate.

5) Media Diperkaya

Media yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Media tersebut memiliki konstituen nutrisi yang mendorong pertumbuhan mikroba tertentu. media yang ditambahkan bahan-bahan tertentu untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang diinginkan seperti darah, serum,

ekstrak daging, atau kuning telur. Contoh, Blood Agar Plate (BAP), Chocolate Agar (CA), Nitrit Agar, Alkali Pepton Water.

c. Jenis Media Berdasarkan Komposisi

Berdasarkan komposisinya, media kultur dibagi atas Atmanto dkk, 2022) :

1) Media Alami

Media yang disusun dari bahan-bahan alami dimana komposisinya tidak dapat diketahui secara pasti dan biasanya langsung diekstrak dari bahan dasarnya seperti: kentang, tepung, daging, telur, ikan sayur, dsb. Contohnya: Tomato juice agar, brain heart infusion agar, pancreatic extract.

2) Media Semi Sintetis

Merupakan media yang disusun dari bahan-bahan alami dan bahan-bahan sintesis. yang mengandung agar, dekstrosa dan ekstrak kentang. Contoh, Potato Dextrose Agar.

3) Media Sintetis

Media sintetis adalah media yang disusun dari senyawa kimia yang jenis dan takarannya diketahui secara pasti. Contohnya: Mac Conkey Agar, Glucose Agar.

3. Media Blood Agar Plate (BAP)

a. Pengertian media BAP

Media BAP merupakan media diferensial dan media diperkaya karena dapat membedakan bakteri berdasarkan kemampuan dalam menghemolisis sel darah merah. Ada tiga tipe hemilisis yaitu β - hemolysis, α - hemolysis, dan γ - hemolysis. Bakteri dengan tipe β - hemolysis disekitar koloni terdapat zona bening, mampu mendestruksi sel – sel darah dan melisiskan darah dengan sempurna. Bakteri α - hemolisa di sekitar koloni terdapat daerah kehijauan, mampu mendestruksi sel darah merah sebagian. Bakteri γ - hemolysis di sekitar koloni tidak mampu mendestruksi sel darah merah (Buxton, 2005).

Media agar darah dibuat dari blood agar base dengan penambahan darah (defibrinasi) 5-10% pada suhu 50-60°C. Para ahli mikrobiologi dapat menginterpretasikan bakteri tumbuh dengan lebih tepat menggunakan darah domba (hanifah, 2024)

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan 14 mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Isolasi mikroorganisme untuk menjadi kultur murni dapat dilakukan dengan menggunakan media pertumbuhan (Tenny O, 2014).

b. Fungsi darah dalam media BAP

Darah dalam media ini berfungsi dua hal utama: pertama sebagai sumber nutrisi tambahan darah menyumbang protein, vitamin, mineral, zat-pertumbuhan seperti hemin dan NAD yang dibutuhkan oleh bakteri patogen tertentu, kedua sebagai substrat untuk mendeteksi aktivitas hemolitik bakteri beberapa mikroorganisme menghasilkan hemolisin yang melisis eritrosit dalam darah, sehingga pada BAP muncul zona-hemolisis yang khas (β -hemolisis: lisis penuh dan area menjadi bening; α -hemolisis: lisis parsial dan zona berubah hijau karena pembentukan methemoglobin; γ -hemolisis: tidak ada lisis) yang membantu mikrobiolog dalam identifikasi presumtif (Prinzi & Rohde, 2023).

c. Kandungan media BAP

Media Blood Agar Plate (BAP) mengandung nutrisi khusus untuk pertumbuhan bakteri yang dapat diperkaya dengan penambahan darah domba atau manusia. Media agar darah domba dan kuda menjadi media agar darah standar untuk menumbuhkan bakteri di negara-negara maju (Nurhidayanti, 2019). Namun pada umumnya, media Blood Agar Plate (BAP) dibuat dengan penambahan darah domba yang telah terdefibrinasi. Darah yang akan digunakan untuk pembuatan media harus sudah didefibrinasi atau disimpan dalam kantong atau tabung yang mengandung antikoagulan agar darah tidak membeku (Russell dkk., 2006).

Media Blod Agar Plate mengandung nutrisi dasar seperti pepton, agar, NaCL, dan darah, umumnya darah domba 5-10%. Kandungan nutrisi ini memungkinkan pertumbuhan bakteri, sementara penambahan darah memungkinkan untuk membedakan bakteri berdasarkan kemampuannya melisis sel darah merah (hemolisis).

4. Darah Sebagai Komponen Media BAP

Darah mengandung nitrogen, asam amino, dan karbon yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri serta mengidentifikasi aktivitas hemolisis oleh bakteri. Darah merupakan zat yang kaya akan nutrisi sehingga sebagian besar bakteri dapat tumbuh pada media yang mengandung darah. Media BAP digunakan untuk membedakan bakteri patogen berdasarkan kekuatan hemolitiknya pada sel darah merah. Media yang diperkaya ini mendukung pertumbuhan banyak organisme patogen tetapi pada saat yang sama memungkinkan karakterisasi bakteri yang berbeda berdasarkan pola hemolitiknya (Hanifah, 2024).

a. Limbah Darah PMI

Darah adalah jaringan, dan, seperti jaringan apapun, mengandung sel dan fragmen sel. Secara kolektif, sel-sel dan fragmen sel disebut elemen padat. Sel dan fragmen sel tersuspensi dalam cairan yang disebut plasma. Elemen padat dalam darah adalah sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keeping darah (trombosit) (Saadah, 2018).

Darah lengkap merupakan darah yang diambil langsung dari pendonor yang dimasukkan dalam kantong darah aseptik dan berisi antikoagulan yang berguna untuk mencegah terjadinya penggumpalan darah. Kemasan kantong darah disimpan pada suhu 2-8°C. Batas waktu simpan darah lengkap selama 35 hari (Rahmawati, 2005).

Seluruh komponen yang terkandung dalam darah manusia kadaluwarsa masih memperlihatkan warna seperti darah segar, namun darah manusia kadaluwarsa tidak boleh ditransfusikan kepada pasien. Faktor pembekuan yang terdapat di dalam darah manusia kadaluwarsa sudah sangat berkurang, dan hal ini memenuhi persyaratan untuk pembuatan medium biakan, karena darah yang dibutuhkan harus terdefibrinasi (Djannatun dkk, 2008).

Darah limbah PMI memiliki komposisi utama yang sama dengan darah domba yaitu eritrosit, lipid, protein, (albumin, globulin), glukosa, asam amino, urea, keratin, natrium, kalium, magnesium, fosfat, mangan, kobal, tembaga, seng dan yodium

b. Darah domba

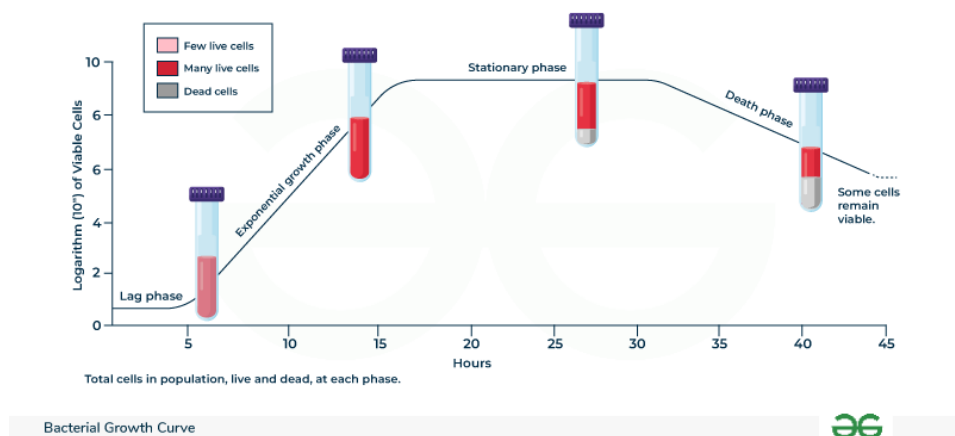
Agar darah domba (ADD) adalah media standar sebagai media pertumbuhan untuk mengidentifikasi jenis bakteri dan sebagai media untuk tes sensitivitas antibiotik dari berbagai bakteri patogen. Dengan menggunakan darah domba atau kuda, para ahli mikrobiologi dapat menginterpretasikan bakteri yang tumbuh dengan lebih tepat (abdat, 2010).

Media agar darah dibuat dari medium basal dengan penambahan darah 5-10% (defibrinasi) pada suhu 50-60°C. Darah yang biasa digunakan untuk mengisolasi dan menumbuhkan mikroorganisme patogen adalah darah kuda, domba, kambing dan kelinci yang mengalami proses defibrinasi. Darah domba mengandung inhibitor terhadap *Haemophilus influenza*. Darah domba yang selama ini sering digunakan untuk percobaan mempunyai komposisi eritrosit 11 juta per mm³, lipid, protein, (albumin, globulin), glukosa, asam amino, urea, keratin, natrium, kalium, magnesium, fosfat, mangan, kobal, tembaga, seng dan yodium (Djannatun dkk, 2008).

5. Pertumbuhan Bakteri

a. Tahap pertumbuhan Bakteri

Tahapan pertumbuhan bakteri terdiri atas empat fase, kurva pertumbuhan bakteri ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sumber: Rini & Rochmah, 2020.

Pertumbuhan bakteri pada gambar nomer 3 dijabarkan sebagai berikut (Rini dan Rochmah, 2020):

1) Fase lag

Fase ini juga disebut fase adaptasi. Pada fase ini, bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan atau media yang baru. bakteri belum menunjukkan pertumbuhan jumlah individu yang jelas dan mengalami adaptasi metabolik agar dapat bertahan hidup di lingkungan baru.

2) Fase eksponensial

Sel-sel bakteri mulai membelah diri dengan cepat secara teratur melalui proses pembelahan biner, dan jumlah sel meningkat secara eksponensial. Ini adalah fase pertumbuhan paling aktif, dengan waktu generasi (waktu yang diperlukan populasi bakteri untuk berlipat ganda) yang pendek. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri pada fase ini adalah kandungan sumber nutrisi, suhu dan kelembapan udara, kadar oksigen, cahaya, dan asosiasi kehidupan diantara mikroba.

3) Fase Stasioner

Pertumbuhan bakteri akan memasuki fase stasioner ketika nutrisi dalam medium mulai menipis, sehingga pertumbuhan sel melambat. Jumlah sel hidup seimbang dengan jumlah sel yang mati.

4) Fase Kematian

fase berakhirnya pertumbuhan sel bakteri. Pada fase ini, nutrisi sudah habis, energi cadangan di dalam sel habis, proses metabolisme berhenti, laju kematian meningkat, dan ada kemungkinan sel-sel dihancurkan oleh pengaruh enzim yang berasal dari sel itu sendiri (autolisis).

b. Faktor – faktor yang mempengaruhi

Faktor lingkungan dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh faktor dari dalam dan luar. Faktor dari dalam meliputi bentuk dan sifat mikroorganisme, serta kemampuannya untuk beradaptasi. Faktor – faktor yang mempengaruhi pertumbuhan. Faktor dari luar meliputi ketersediaan nutrisi, suhu, kelembapan/cahaya, dan keberadaan senyawa lain yang dapat bersifat toksik, penghambat, atau pemacu (Rini & Rochmah, 2020).

1) Suhu

Bakteri memiliki suhu optimum untuk tumbuh. Setiap bakteri memiliki temperatur optimal dimana mereka dapat tumbuh sangat cepat. Bakteri patogen biasanya akan tumbuh baik pada suhu 37°C

2) Nutrisi

Ketersediaan zat gizi seperti karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral sangat penting untuk pertumbuhan bakteri. Kekurangan sumber-sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi

pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian

3) pH

Tingkat keasaman atau kebasaan sangat memengaruhi pertumbuhan mikroba. Setiap mikroba memiliki rentang pH optimal untuk pertumbuhannya. Pada bakteri patogen optimalnya 7.2-7.6

4) Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigennya, mikroba dapat digolongkan menjadi aerob, anaerob, fakultatif anaerob, dan mikroaerofil.

- a) Aerobik: hanya dapat tumbuh apabila ada oksigen bebas.
- b) Anaerob: hanya dapat tumbuh apabila tidak ada oksigen bebas.
- c) Fakultatif anarob: dapat tumbuh baik dengan atau tanpa oksigen bebas.
- d) Mikroaerofilik: dapat tumbuh apabila ada oksigen dalam jumlah kecil.

5) Kelembapan

Kandungan air di sekitar bahan pangan memengaruhi pertumbuhan bakteri. Lingkungan dengan kelembapan tinggi dapat memicu pertumbuhan bakteri. Nilai kadar air bebas di dalam larutan bakteri umumnya Antara 0.90-0.999.

6) Ion – ion lain

Untuk pertumbuhannya bakteri membutuhkan unsur-unsur kimia seperti C, H, N, S, dan P. selain itu juga membutuhkan unsur mikro seperti, Zn, Fe, dan Cu. Sedangkan logam berat seperti Hg, Ag, Cu, Au, dan Pb pada kadar rendah dapat bersifat meracun (toksin). Logam berat memiliki daya oligodinamik yaitu daya bunuh logam berat pada kadar rendah. Selain logam berat ada juga ion-ion lain yang dapat mempengaruhi kegiatan fisiologi mikroba antara lain ion sulfat, tartrat, klorida, nitrat, dan benzoat. Ion-ion ini dapat mengurangi pertumbuhan mikroba tertentu (Risando, 2023).

6. Hemolisis pada media BAP

Menurut khasanah (2020) ada tiga jenis hemolisis pada bakteri, yaitu :

a. Beta hemolisis

Merupakan lisis lengkap sel darah merah dan hemoglobin, darah secara lengkap digunakan oleh mikroba. Steptolisyn, suatu eksotoksin yang merupakan enzim yang diproduksi oleh bakteri yang menyebabkan lisis lengkap sel darah merah. Media yang ada koloninya menjadi tidak berwarna.

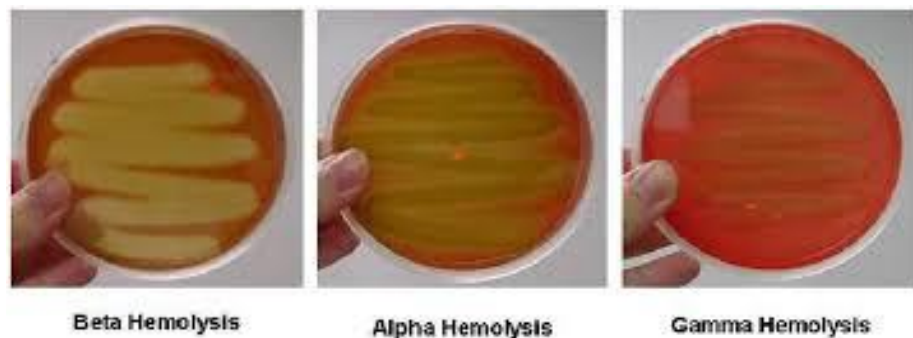
b. Alfa hemolisis

Merupakan lisis persial/sebagian dari sel darah merah dan hemoglobin. Hal ini menghasilkan perubahan warna disekitar koloni menjadi abu-abu kehijauan. Alfa hemolisis disebabkan hydrogen

peroksida yang diproduksi oleh bakteri, pengosidasi hemoglobin menghasilkan methemoglobin derivate teroksidasi hijau.

c. Gamma hemolisis

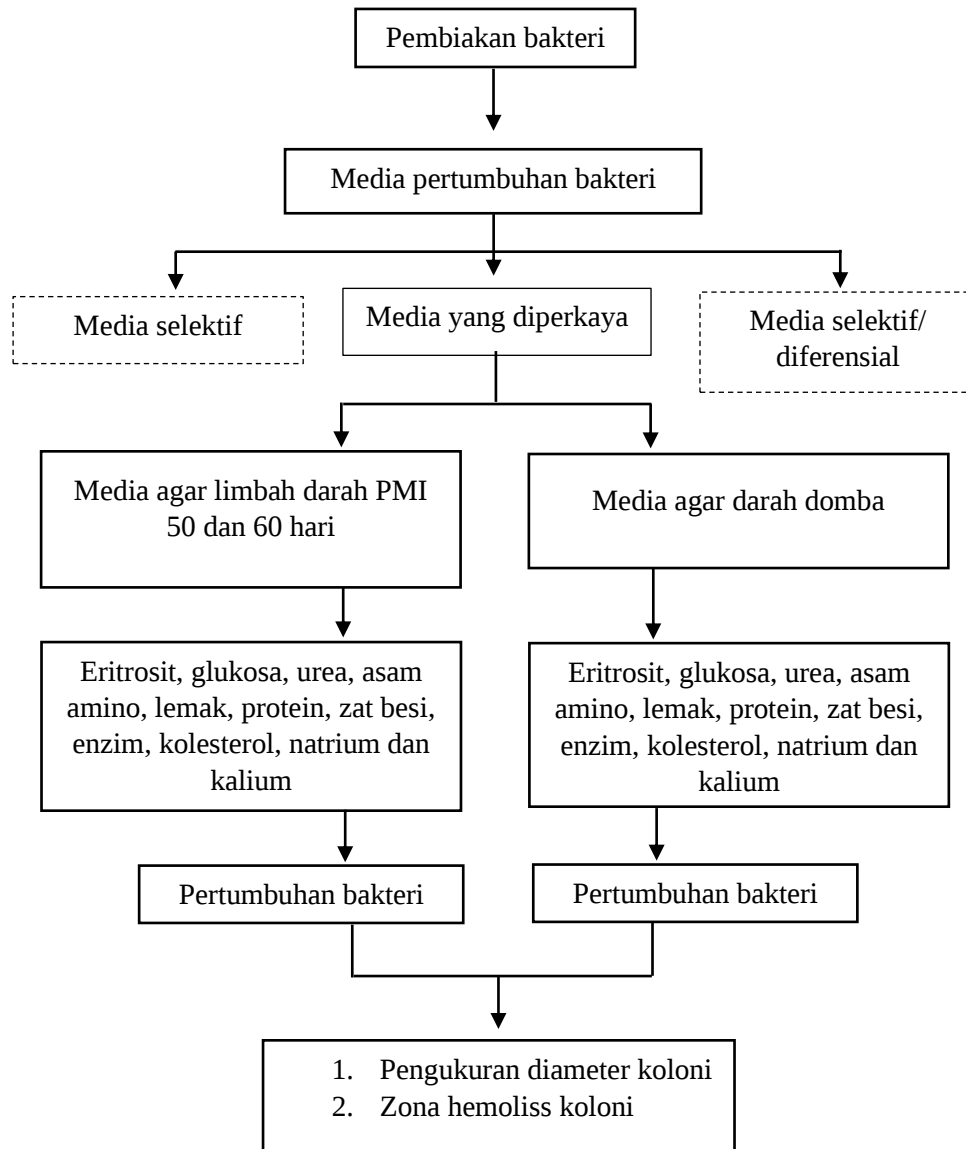
Tidak terjadinya hemolisis, dimana tidak ada perubahan warna dalam media. Bakteri tidak mampu menghemolis atau tidak merusak sel darah merah. Hemolisis *Streptococcus pneumoniae* ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hemolisis pada media BAP
Sumber. <https://share.google/images/dcj0vO2zhqdd4kkuC>

B. Kerangka Teori

Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 5.



C. Pertanyaan Penelitian

Apakah ada perbedaan pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media agar limbah darah PMI dan agar darah domba?