

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Telaah Pustaka

##### 1. Media kultur bakteri

Media kultur atau media pertumbuhan bakteri adalah substrat nutrisi yang disiapkan untuk kultur atau pertumbuhan mikroorganisme di laboratorium. Media kultur umumnya terdiri dari karbon, nitrogen dan sumber energi dengan pH optimum 7,2–7,6 untuk pertumbuhan yang cepat. Mikroba yang tumbuh dan berkembang biak pada media kultur disebut kultur (Aneja dan Aneja, 2023).

Berdasarkan fungsinya, media kultur yang digunakan dalam laboratorium dibagi menjadi lima, yaitu:

##### a. Media basal

Media basal pada dasarnya adalah media sederhana yang terbuat dari nutrisi dasar dan digunakan untuk pertumbuhan atau kultur bakteri *non-fastidious* yang tidak memerlukan pengayaan. Media ini umumnya digunakan sebagai dasar untuk menyiapkan media yang diperkaya, sehingga disebut media basal. Media ini umumnya digunakan untuk isolasi primer bakteri. Contohnya, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB) dan air pepton. *Staphylococcus* sp. dan anggota *Enterobacteriaceae* tumbuh di media ini (Aneja dan Aneja, 2023).

b. Media selektif

Media kultur selektif digunakan untuk mengisolasi spesies atau genus bakteri tertentu. Sejumlah inhibitor ditambahkan ke dalam media kultur untuk menghilangkan flora mikroba yang tidak diinginkan. Media selektif terdiri dari media basal yang ditambahkan antibiotik, bahan kimia, pewarna, antiseptik, garam natrium, atau fag. Contoh media selektif adalah *mannitol salt agar* dan *MacConkey agar* untuk *Escherichia coli*, *Lowenstein-Jensen* untuk *Mycobacterium tuberculosis*, *blood tellurite agar* untuk *Corynebacterium* dan *Doxychocolate agar* (DCA) untuk *Salmonella* dan *Shigella* (Aneja dan Aneja, 2023).

c. Media diferensial

Media diferensial mengandung indikator yang akan menghasilkan perubahan yang terlihat setelah pertumbuhan bakteri tertentu. Media ini digunakan untuk diferensiasi bakteri dengan menggunakan berbagai indikator. Contohnya, *MacConkey agar* untuk membedakan bakteri fermentor laktosa, agar darah untuk bakteri hemolitik dan EMB (*Eosin Methylene Blue*) untuk batang Gram-negatif enterik (Aneja dan Aneja, 2023).

d. Media yang diperkaya

Media ini diperkaya dengan menambahkan darah, serum atau telur ke dalam komponen media basal untuk mendorong pertumbuhan mikroorganisme tertentu dalam kultur campuran. Contoh media yang

diperkaya adalah agar darah untuk infeksi streptokokus, agar cokelat untuk isolasi *Haemophilus sp.* dan Bordet-Gengon untuk isolasi *Bordetella sp.* (Aneja dan Aneja, 2023).

e. Media transpor atau penampung

Media transpor adalah media penampungan yang dirancang untuk mempertahankan viabilitas mikroorganisme dalam spesimen tanpa memungkinkan perkembangbiakannya. Media ini digunakan ketika spesimen klinis tidak dapat segera dikultur setelah dikumpulkan dan diangkut ke laboratorium untuk diidentifikasi. Media ini biasanya hanya mengandung buffer dan garam serta kekurangan karbon, nitrogen dan faktor organik. Contohnya meliputi media Ames yang digunakan untuk gonokokus dan media Cary-Blair yang digunakan untuk feses yang mungkin mengandung *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* atau *Campylobacteria* (Aneja dan Aneja, 2023).

f. Media gula atau fermentasi

Media ini digunakan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan kemampuan memfermentasi gula, misalnya laktosa, glukosa dan manitol. Gula ditambahkan ke dalam air pepton yang mengandung indikator Andrade. Produksi asam atau gas digunakan sebagai karakteristik identifikasi (Aneja dan Aneja, 2023).

g. Media pertumbuhan anaerob

Media pertumbuhan anaerob juga disebut media pereduksi karena mengandung zat pereduksi, seperti asam tioglikolat dan sistin,

yang menyerap oksigen dan memungkinkan pertumbuhan bakteri anaerob obligat seperti *Clostridium*. Contoh medianya meliputi *thioglycolate broth* dan *cooked meat broth* (Aneja dan Aneja, 2023).

#### h. Media uji

Media ini digunakan untuk menguji efektivitas obat antimikroba, seperti dalam uji difusi agar. *Müller-Hinton Agar* (MHA) digunakan untuk uji sensitivitas antibiotik (Aneja dan Aneja, 2023).

#### i. Media enumerasi

Media kultur yang digunakan untuk menghitung jumlah organisme dalam air, susu, makanan, tanah, udara dan sampel lainnya disebut media enumerasi. Media ini digunakan oleh ahli mikrobiologi pangan dan lingkungan (Aneja dan Aneja, 2023).

### 2. Media agar darah

Media agar darah atau *Blood Agar Plate* (BAP) mengacu pada media dasar (*blood agar base*) yang diperkaya dengan penambahan darah mamalia yang telah didefibrilasi. *Blood agar base* adalah media non-selektif dan serbaguna yang digunakan tanpa atau dengan penambahan berbagai suplemen seperti darah, serum dan karbohidrat. Media agar darah terdiri dari berbagai komponen, seperti ekstrak daging sapi, triptosa, natrium klorida dan agar. Ekstrak daging sapi dan triptosa merupakan sumber karbon, nitrogen dan elemen mikro yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba. Natrium klorida berkontribusi pada keseimbangan osmotik media (Carozzi, 2023).

Suplemen yang biasanya ditambahkan pada agar darah adalah 5–7% darah domba atau kuda steril yang sudah didefibrinasi. Penambahan darah bertujuan untuk mengisolasi dan menumbuhkan bakteri *fastidious*, seperti streptokokus, pneumokokus, meningokokus dan haemophilus. Selain itu, penambahan darah dapat membantu untuk menentukan sifat hemolitik bakteri dari spesimen klinis atau bahan lainnya (Carozzi, 2023).

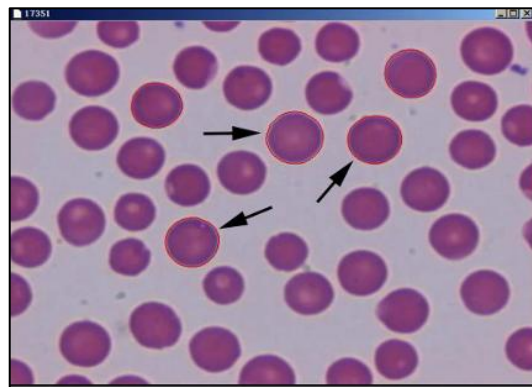


Gambar 1. Media Agar Darah  
Sumber: Carozzi, 2023.

### 3. Darah domba

Darah domba adalah bahan standar untuk media isolasi bakteri yang mempunyai kemampuan menghemolisis darah (Krihariyani, Woelansari dan Kurniawan, 2016). Darah domba mengandung lipid, protein (albumin, globulin), glukosa, asam amino, urea, keratin, natrium, kalium, magnesium, fosfat, mangan, kobalt, tembaga, seng dan yodium (Djannatun dkk., 2008). Darah domba dewasa normal mengandung eritrosit 9,0–11,1 juta, hemoglobin 11,6–13,0 g/dL dan hematokrit 32,0–37,0%. Adanya eritrosit berfungsi untuk melihat jenis hemolisis bakteri (Turista dan Puspitasari, 2019).

Ukuran eritrosit domba jenis *Lika permenka* sedikit lebih kecil daripada kebanyakan eritrosit mamalia lainnya. Eritrosit domba memiliki diameter  $4,5\mu\text{m}$ , lebar  $3,2\text{--}5\mu\text{m}$  dan rentang hidup 70–150 hari. Mereka tidak mudah beragregasi atau berubah bentuk seperti eritrosit spesies non-ruminansia lainnya. Ras, usia dan jenis kelamin diketahui memengaruhi nilai parameter morfometrik (Žaja dkk., 2019). Darah domba memiliki karakteristik membran sel eritrosit yang tipis (Oktari, Vanawati dan Kurniawati, 2019).



Gambar 2. Morfologi Eritrosit Domba  
Sumber: Žaja dkk., 2019.

Darah domba diperoleh melalui vena jugularis. Darah diolah dengan defibrinasi manual atau dengan penambahan sitrat. Defibrinasi dilakukan dengan mengumpulkan darah pada botol steril yang berisi 9 cc manik-manik kaca 4 mm dengan agitasi manual yang konstan selama proses pendarahan. Sedangkan, penambahan sitrat dilakukan dengan memasukkan darah ke dalam kantong donor darah yang berisi sitrat-fosfat-dekstrosa dengan rasio antikoagulan dan darah 1,4:10 (Yeh dkk., 2009).

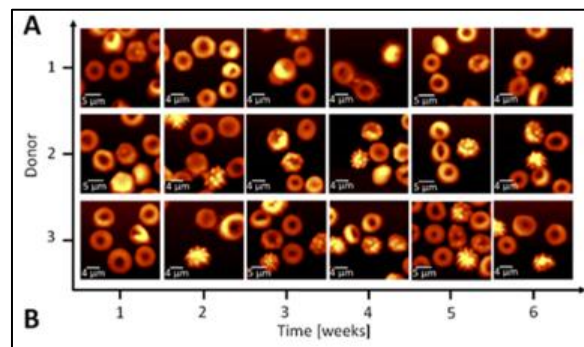
#### 4. *Packed Red Cell* kedaluwarsa

*Packed Red Cell* (PRC) atau *Red Cell Concentrate* (RCC) diperoleh dari sentrifugasi darah lengkap kemudian plasma dikeluarkan. Suspensi sel darah merah ditransfusikan kepada pasien setelah diencerkan dengan larutan garam steril. Setiap unit PRC berisi 150-200 mL sel darah merah. Konsentrasi hemoglobin dalam PRC berkisar 20,0 g/dL, tidak kurang dari 45 g per unit, dengan kadar hematokrit sebesar 55–75% (Ajmani, 2020).

Kadar hemoglobin pada PRC dengan masa simpan 0–35 hari mengalami penurunan yang tidak signifikan dari rata-rata 22,56 g/dL menjadi 21,40 g/dL (Aditya dan Yulianti, 2022). Ditemukan bahwa dari 30 sampel PRC, 25 sampel (83,33%) tidak hemolisis, sementara 5 sampel lainnya (16,67%) hemolisis. Hemolisis pada PRC disebabkan oleh pengurangan plasma selama proses pemisahan, yang mengurangi pasokan protein dan nutrisi untuk eritrosit (Kusumawardani dan Ardhana, 2025).

*Packed Red Cell* merupakan produk darah terpenting yang dapat disimpan selama sekitar 35–42 hari di bank darah (Harisanti, Arman dan Idaman, 2021). Penambahan antikoagulan CPDA dapat mempertahankan kadar *Adenosin Triphosphat* (ATP) dalam darah sampai 35 hari penyimpanan atau selama 5 minggu. Penyimpanan darah pada suhu  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  dalam lemari pendingin bertujuan menjaga *dextrose* tidak cepat habis dan mengurangi pertumbuhan bakteri yang dapat mengkontaminasi darah. (Rosyidah, Mustapa dan Sumoko, 2020).

Selama penyimpanan PRC, penurunan kadar glukosa disertai dengan peningkatan laktat yang signifikan dan peningkatan fFe, yang menunjukkan perkembangan hemolisis dan pelepasan Hb ke supernatan. Penurunan cepat nilai pH, yang diamati antara minggu kedua dan keempat penyimpanan, merupakan akibat dari akumulasi limbah dan penyebab perubahan lebih lanjut, dalam afinitas Hb atau fungsi membran. Hilangnya sifat biokimia dan morfologi eritrosit secara progresif sebagian besar disebabkan oleh perubahan ireversibel dalam pertukaran ion melalui membran sel darah merah, yang akibatnya menyebabkan lesi penyimpanan (Zimna dkk., 2021).



Gambar 3. Morfologi Eritrosit Manusia Berdasarkan Waktu Penyimpanan

Sumber: Zimna dkk., 2021.

Darah manusia memiliki nilai hemoglobin rata-rata yang jauh lebih tinggi dibandingkan darah domba. Selain itu, defibrinasi darah domba kemungkinan besar menyebabkan penurunan nilai hemoglobin lebih lanjut. Hemolisis pada agar darah yang mengandung darah manusia memang ada tetapi tidak terlihat karena kelebihan hemoglobin. Oleh karena itu,

diperlukan komposisi baru untuk agar darah dengan konsentrasi darah manusia yang jauh lebih rendah (Niederstebruch dkk., 2017).

#### 5. Faktor pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan merupakan karakteristik penting organisme hidup. Pertumbuhan mikroba didefinisikan sebagai proses peningkatan jumlah sel, ukuran sel, massa sel dan aktivitas sel. Pertumbuhan bakteri mengacu pada peningkatan jumlah sel, yaitu populasi. Mikroba yang tumbuh dan bertambah jumlahnya terakumulasi menjadi koloni, kelompok sel yang cukup besar untuk dilihat dengan mata telanjang, yang terdiri dari ratusan ribu sel atau populasi miliaran sel (Aneja dan Aneja, 2023).

Menurut Aneja dan Aneja (2023), faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah sebagai berikut.

##### a. Suhu

Suhu merupakan faktor fisik terpenting yang memengaruhi pertumbuhan bakteri. Suatu organisme menunjukkan suhu optimum, minimum dan maksimum. Berdasarkan suhu pertumbuhannya, bakteri dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori:

- 1) Psikrofil, tumbuh pada suhu rendah kurang dari 15°C dan terus tumbuh bahkan pada suhu 0°C.
- 2) Mesofil, tumbuh pada suhu 10°C hingga 50°C, dengan kondisi terbaik antara 20 dan 40°C.
- 3) Termofil, yang tumbuh pada suhu tinggi, antara 45 dan 80°C.

Suhu optimum pertumbuhan mayoritas bakteri patogen manusia adalah 37°C (suhu tubuh manusia) dengan batas atas 40–50°C dan batas bawah 15–20°C.

b. Ketersediaan zat terlarut dan air atau tekanan osmotik

Bakteri yang aktif bermetabolisme membutuhkan air di lingkungannya. Air dapat ditarik masuk atau keluar sel sesuai dengan tekanan osmotik relatif yang dihasilkan oleh zat terlarut di dalam sel dan lingkungannya. Berdasarkan kebutuhan garam (NaCl), bakteri dapat dikategorikan sebagai berikut.

1) Halofil

Bakteri ini membutuhkan garam dalam jumlah sedang hingga besar untuk pertumbuhannya, seperti *Halobacteria*. Halofil terdiri dari tiga jenis, yaitu halofil ringan yang membutuhkan 1–6% garam, halofil sedang yang membutuhkan 6–15% garam dan halofil ekstrem yang membutuhkan 15–30% garam.

2) Halotoleran

Bakteri ini tumbuh paling baik tanpa NaCl tetapi dapat tumbuh pada konsentrasi garam sedang, misalnya *Cyanobacteria*.

3) Osmofil

Bakteri ini tumbuh di lingkungan dengan kadar gula tinggi, misalnya *Enterobacter aerogenes* dan *Micrococcus*.

c. Pengeringan

Mikroorganisme yang tumbuh subur di lingkungan kering atau kekurangan air disebut xerofil, misalnya, *Trichosporonoid*. Di sisi lain, beberapa bakteri seperti *Treponema pallidum*, gonokokus dan *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) tidak dapat tumbuh dan mati dengan cepat setelah pengeringan. Basil tuberkulosis dan stafilokokus dapat bertahan hidup setelah pengeringan selama beberapa minggu. Takson bakteri penghasil endospora, misalnya *Bacillus*, dapat bertahan hidup bahkan hingga ribuan tahun. Pengeringan dalam kondisi dingin dan vakum atau liofilisasi digunakan sebagai metode pengawetan bakteri dan virus.

d. Oksigen

Jumlah oksigen ( $O_2$ ) di lingkungan sangat memengaruhi pertumbuhan bakteri. Berdasarkan kebutuhan oksigennya, bakteri diklasifikasikan menjadi:

- 1) Bakteri aerob, membutuhkan  $O_2$  untuk pertumbuhannya.
  - a) Aerob obligat, tumbuh hanya jika ada  $O_2$ , contohnya *Vibrio*.
  - b) Aerob fakultatif, bakteri aerob yang lebih menyukai sedikit oksigen tetapi juga dapat tumbuh tanpa  $O_2$ .
  - c) Mikroaerofil, membutuhkan sedikit oksigen untuk tumbuh.
- 2) Bakteri anaerob, tumbuh tanpa  $O_2$ .
  - a) Anaerob obligat (*strict*), mati oleh oksigen bebas dan hanya dapat tumbuh tanpa oksigen.

- b) Anaerob aerotoleran, memetabolisme zat secara anaerob tetapi tidak dirusak oleh oksigen bebas.

e. pH

Mikroorganisme sangat rentan terhadap perubahan keasaman (pH 0–7) dan alkalinitas (pH 7–14) pada media di sekitarnya. pH optimum untuk sebagian besar mikroba berkisar antara 6–8. Asidofil lebih menyukai pH rendah dan alkalnofil lebih menyukai pH yang lebih tinggi. Sebagian besar bakteri yang penting secara medis dapat tumbuh pada pH netral atau sedikit basa (7,2–7,6).

f. Karbon dioksida

Beberapa bakteri, seperti *Brucella abortus*, membutuhkan tambahan CO<sub>2</sub> di udara untuk pertumbuhannya. Sementara itu, bakteri lain seperti *Pneumococcus* dan *Gonococci* tumbuh lebih baik di udara yang diperkaya dengan 5–10% CO<sub>2</sub>. Organisme ini disebut kapnofil.

g. Tekanan barometrik atau hidrostatik

Tekanan barometrik juga memengaruhi pertumbuhan mikroba. Beberapa bakteri dapat bertahan terhadap tekanan barometrik ekstrem di laut yang dalam. Organisme semacam ini disebut barofil.

h. Cahaya dan radiasi lainnya

Kegelapan menyediakan kondisi yang menguntungkan bagi viabilitas dan pertumbuhan, sehingga kultur biasanya diinkubasi dalam kondisi gelap. Sinar ultraviolet dari sinar matahari langsung atau lampu

merkuri (254 nm) bersifat bakterisida. Radiasi pengion juga memiliki efek mematikan pada bakteri (Aneja dan Aneja, 2023).

#### 6. Teknik isolasi atau kultur bakteri

Teknik isolasi atau kultur bakteri digunakan untuk memperoleh kultur murni bakteri. Teknik-teknik ini membantu dalam mempelajari karakteristik morfologi dan fisiologi bakteri (Salwan dan Sharma, 2023).

##### a. Cawan gores

Teknik ini ditemukan oleh Loffler dan Gaffky untuk mengisolasi kultur murni dalam bentuk koloni tunggal. Isolasi sel bakteri dilakukan dengan menggoreskan jarum inokulasi secara perlahan di atas permukaan agar untuk membuat garis-garis yang tidak tumpang tindih. Penggoresan dapat dilakukan secara zig-zag dan kuadrat. Penggoresan diulang tiga kali atau lebih untuk menutupi seluruh permukaan agar sehingga koloni yang terisolasi dapat terbentuk. Jumlah koloni yang terbentuk pada goresan ketiga, keempat, atau terakhir relatif lebih sedikit dibandingkan goresan pertama. Koloni yang terpisah akan terbentuk setelah inkubasi (Salwan dan Sharma, 2023).

##### b. Cawan sebar

Campuran populasi mikroorganisme dalam sampel (tanah, air, atau lainnya) diencerkan secara serial untuk mendapatkan koloni terpisah atau individual di atas permukaan agar. Sejumlah kecil sampel yang telah diencerkan ditempatkan di tengah permukaan agar dan disebarkan secara merata menggunakan *spreader* berbentuk L hingga

agar menyerap cairan. Sel tunggal atau terdispersi akan muncul dalam bentuk koloni terpisah setelah inkubasi. Teknik ini juga digunakan untuk menghitung jumlah koloni dengan menggunakan rumus berikut (Salwan dan Sharma, 2023).

$$\text{Jumlah sel/ml} = \frac{\text{Jumlah koloni faktor pengenceran}}{\text{Volume atau jumlah yang disebar}}$$

c. Cawan tuang

Sejumlah kecil suspensi yang telah diencerkan dituangkan bersama media agar cair (42–45°C) ke dalam cawan petri steril dan diaduk rata dengan memutar cawan secara perlahan. Cawan dibiarkan dingin dan memadat. Cawan akan dipantau untuk melihat kemunculan koloni setelah inkubasi. Metode ini juga digunakan untuk mengukur jumlah sel yang hidup tetapi estimasi yang tepat tidak dapat diperoleh karena banyak bakteri tidak dapat tumbuh di bawah permukaan agar (Salwan dan Sharma, 2023).

d. Mikromanipulator

Metode ini dikembangkan untuk mendapatkan sel tunggal dari populasi campuran dengan bantuan mikromanipulator. Alat ini bekerja berdasarkan prinsip penyesuaian mikrometer untuk menggerakkan mikropipet ke berbagai arah. Tetesan encer yang mengandung sel-sel individual diambil dari populasi campuran dan dipindahkan di atas penutup kaca steril hingga diperoleh sel atau mikroorganisme murni. Setelah perbanyakan dan peningkatan jumlah sel, tetesan dipindahkan ke media baru untuk mendapatkan kultur murni. Namun, metode ini

memiliki kekurangan seperti biaya peralatan yang tinggi dan membutuhkan tenaga kerja terampil (Salwan dan Sharma, 2023).

e. Subkultur

Metode ini melibatkan pemindahan mikroorganisme dari sumber pertumbuhan induknya ke sumber pertumbuhan baru atau dari satu media ke media lain. Ketika pemindahan dilakukan dari media padat ke media cair, istilah pengambilan (*picking off*) digunakan (Salwan dan Sharma, 2023).

7. Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

*Streptococcus pneumoniae* adalah mikroorganisme anaerob fakultatif Gram-positif,  $\alpha$ -hemolitik, katalase negatif, dengan morfologi streptokokus. Diameter koloni melingkar dapat berkisar antara 0,5–1 mm. Rantai streptokokus terdiri dari 1–4 organisme kokus. Bakteri ini sebagian besar berbentuk seperti domba dan tumbuh berpasangan atau berkelompok kecil. Selnya tampak seperti kokus bulat pipih, yang dapat dengan mudah disalahartikan sebagai diplokokus (Mahdi dan Abed, 2024).

*Streptococcus pneumoniae* ATCC berguna sebagai strain kontrol bakteri  $\alpha$ -hemolitik pada media agar darah (Carozzi, 2023). Koloni *S. pneumoniae* tampak agak transparan dan dikelilingi oleh area zona lisis sel darah merah yang tidak lengkap pada media agar darah (Mahdi dan Abed, 2024). *Streptococcus pneumoniae* menghasilkan warna kehijauan pada lempeng agar darah yang disebut  $\alpha$ -hemolisis. Halo  $\alpha$ -hemolisis pada lempeng agar darah telah dikaitkan dengan aktivitas hemolitik pneumolisin

pneumokokus (Ply) dengan lisis eritrosit oleh hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh *S. pneumoniae* (Mcdevitt dkk., 2020).

Berbagai faktor virulensi yang berkontribusi terhadap patogenisitas *S. pneumoniae* adalah sebagai berikut.

a. Pneumolisin

Pneumolisin adalah toksin yang membentuk pori-pori pada membran sel dan menyebabkan lisis sel, yang menginduksi peradangan dan mengaktifkan sistem komplemen pada inang manusia (Alexandrova dkk., 2025).

b. Adhesin

1) *Pneumococcal surface protein A* (PspA) merupakan adhesin paling menonjol pada pneumokokus dan penting untuk perlekatan awal (Mahdi dan Abed, 2024).

2) *Choline-binding protein A* (CbpA) adalah glikokonjugat yang paling signifikan untuk perlekatan pneumokokus (Mahdi dan Abed, 2024). Adhesin ini menginduksi transkripsi dan pelepasan molekul proinflamasi oleh sel epitel alveolar manusia (Alexandrova dkk., 2025).

3) *Pneumococcal adherence and virulence protein A* (PavA) ditampilkan pada permukaan luar sel *S. pneumoniae* dan memediasi pengikatan pneumokokus ke fibronektin yang diimobilisasi (Alexandrova dkk., 2025).

c. Enzim ekstraseluler

Neuraminidase NanA, NanB dan NanC (sialidase) memecah asam sialik terminal dari struktur glikana yang menghiasi permukaan sel inang. NanA, NanB dan NanC dapat memecah sialoglikoprotein serum, termasuk fetuin-A, yang kadarnya rendah dikaitkan dengan penyakit pneumokokus invasif. Enzim glikosidase membantu bakteri memperoleh karbohidrat, memfasilitasi perlekatan bakteri dan memodulasi fungsi protein imun inang. Selain itu, glikosidase berkontribusi pada pembentukan biofilm, sehingga komunitas bakteri lebih tangguh terhadap pengobatan antimikroba dan serangan sistem imun inang (Alexandrova dkk., 2025).

d. Kapsul

Kapsul pneumokokus merupakan faktor virulensi utama. Lebih dari 100 polisakarida berbeda, yang terdapat pada permukaan bakteri, berkontribusi pada kemampuan diferensial serotipe untuk bertahan hidup dalam darah. Kapsul polisakarida membantu melindungi bakteri dari pembunuhan opsonofagosit yang dimediasi komplemen (Alexandrova dkk., 2025).

e. Pili

Pili merupakan struktur ekstraseluler non-esensial yang memediasi adhesi bakteri ke sel inang dan berperan langsung dalam mendorong adhesi, kolonisasi dan patogenesis *S. pneumoniae*. Dua jenis pili telah ditemukan: pilus-1, yang dikode oleh *Pilus Islet 1* (PI-

1) yang dibentuk oleh subunit protein RrgA, RrgB dan RrgC dan pilus-2, yang dikode oleh *Pilus Islet 2* (PI-2) dan merupakan polimer yang sebagian besar terdiri dari protein struktural PitB (Alexandrova dkk., 2025).

*American Type Culture Collection* (ATCC) digunakan karena farmakope merekomendasikan mikroorganisme yang digunakan dapat dilacak ke koleksi kultur yang bereputasi baik. Mikroorganisme ini telah disubkultur secara serial dalam koleksi kultur nasional selama beberapa dekade dan dikondisikan untuk tumbuh pada media kultur laboratorium yang kaya. Mikroorganisme ini dirancang untuk menilai kesesuaian media pada saat pembuatan dan memverifikasi media setelah diterima (Sandle, 2016).

#### 8. Parameter pertumbuhan bakteri

Penentuan karakteristik morfologi koloni, jumlah koloni dan zona hemolisis pada lempeng agar darah merupakan langkah awal yang penting dalam identifikasi bakteri patogen (Yeh dkk., 2009). Morfologi makroskopis yaitu karakteristik koloni yang tumbuh pada media kultur, seperti tekstur, ukuran, bentuk, pigmen, warna, elevasi dan translusensi (Aneja dan Aneja, 2023).

Jumlah nutrisi yang tersedia dalam media kultur akan menentukan ukuran koloni bakteri. Media kultur yang terlalu padat disebabkan oleh konsentrasi agen pembentuk gel yang tinggi yang menyebabkan penurunan aliran nutrisi. Jumlah nutrisi yang terlalu tinggi dapat bersifat toksik bagi

bakteri tertentu. Penyediaan unsur-unsur tertentu seperti lingkungan alaminya dapat menghasilkan koloni yang lebih besar (Bonnet dkk., 2020).

a. Jumlah koloni

Berdasarkan ISO 11133:2014, evaluasi media kultur dilakukan melalui pengujian fungsional, termasuk produktivitas, selektivitas dan spesifisitas. Parameter utama untuk mengevaluasi media non-selektif adalah produktivitas media. Produktivitas adalah tingkat pemulihan mikroorganisme target dari media kultur di bawah kondisi yang ditentukan. Prinsip pengujian ini adalah membandingkan pertumbuhan mikroorganisme pada media uji terhadap media referensi yang telah distandarisasi. Rasio produktivitas atau *Productivity Ratio* (PR) untuk metode kuantitatif ditentukan menggunakan formula:

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

Keterangan:

- 1)  $N_s$  adalah jumlah total koloni yang diperoleh pada atau di dalam media kultur yang sedang diuji, misalnya jumlah koloni pada cawan petri.
- 2)  $N_o$  adalah jumlah total koloni yang diperoleh pada atau dalam media kultur referensi yang ditentukan, diperoleh dari satu atau lebih cawan petri, dan harus sekitar 100 CFU (*Colony Forming Units*) (ISO, 2014).

Standar ISO 11133:2014 menetapkan tingkat inokulasi mikroorganisme target harus berada dalam rentang 100–150 CFU per

cawan petri untuk mencapai presisi yang memadai dalam pengujian kuantitatif. Suatu media non-selektif dinyatakan memenuhi syarat fungsional apabila nilai PR mencapai lebih dari 0,70. Namun, apabila PR melebihi 1,4, maka perlu dilakukan identifikasi penyebab pertumbuhan berlebih yang terjadi pada media (ISO, 2014).

Menurut Aneja dan Aneja (2023), metode yang umum digunakan untuk menghitung bakteri dalam media kultur adalah sebagai berikut.

1) Penghitungan mikroskopis langsung

Penghitungan jumlah bakteri secara mikroskopis dalam volume cairan yang diukur menggunakan kamar hitung (*slide* kaca khusus) seperti kamar hitung Petroff-Hausser dan hemositometer. Ini menghasilkan jumlah total bakteri yang ada dalam sampel, baik bakteri yang hidup maupun mati.

2) Mengamati atau mengukur kekeruhan

3) Jumlah sel total atau jumlah sel yang hidup

Jumlah sel yang hidup dihitung dengan penghitungan cawan pengenceran serial. Dalam metode ini, pengenceran kultur bakteri cair dengan perbandingan 1:10 dibuat secara berurutan dan dipindahkan ke cawan agar. Koloni yang terbentuk pada media kultur dihitung. Koloni dinyatakan sebagai unit pembentuk koloni yang masing-masing mewakili satu sel (Aneja dan Aneja, 2023).

b. Zona hemolisis

Standar ISO 11133:2014 menetapkan penilaian kualitatif terhadap karakteristik mikroorganisme yang tumbuh sebagai syarat penerimaan media. Hal ini mencakup pola hemolisis yang dihasilkan mikroorganisme target yang tumbuh pada media agar darah (ISO, 2014). Berikut macam pola hemolisis yang dapat tumbuh dalam media agar darah.

1) Hemolitik beta ( $\beta$ -hemolitik)

Galur  $\beta$ -hemolitik sepenuhnya menghemolisis eritrosit, menghasilkan zona bening di sekitar koloni. Bakteri  $\beta$ -hemolitik meliputi *S. pyogenes* dan *S. agalactiae*. Bakteri *S. pyogenes* merupakan golongan streptokokus grup A penyebab radang tenggorokan, demam rematik dan glomerulo-nefritis pasca streptokokus. Bakteri *S. agalactiae* termasuk golongan streptokokus Grup B penyebab sepsis neonatal (Yeh dkk., 2009).

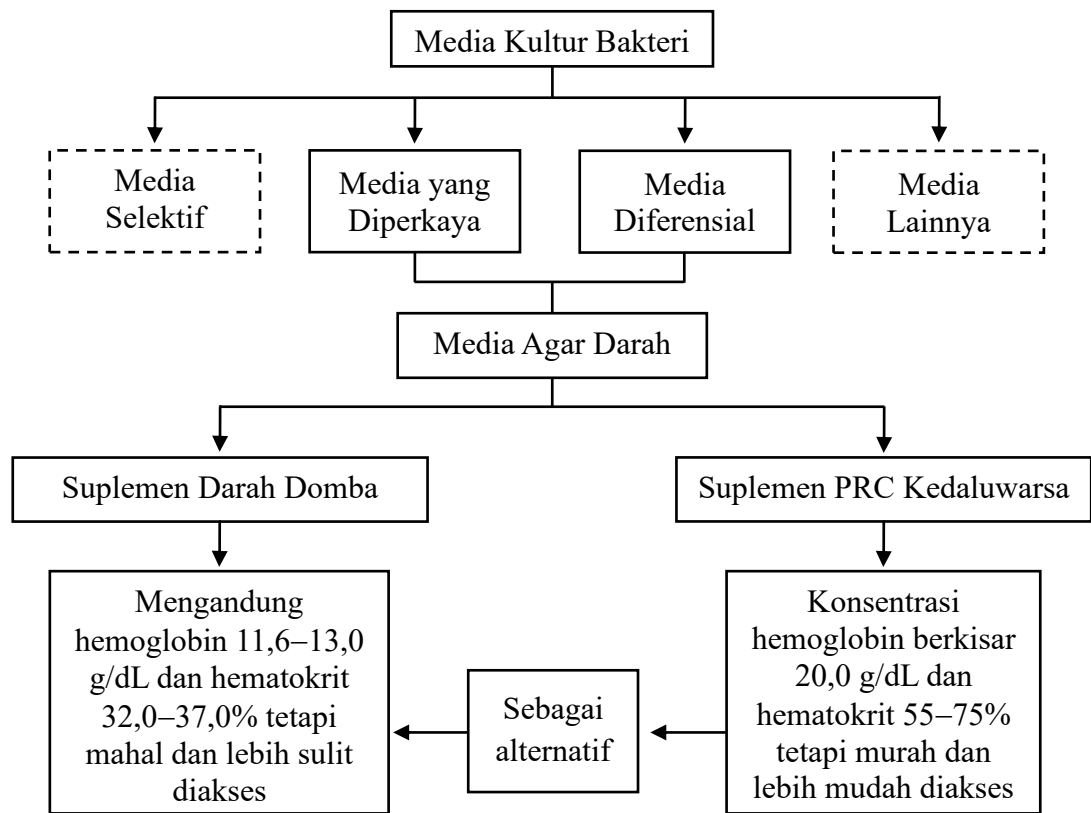
2) Hemolitik alfa ( $\alpha$ -hemolitik)

Hemolisis parsial yang menyebabkan perubahan warna hijau pada agar terlihat pada galur  $\alpha$ -hemolitik, yang mencakup organisme penyebab sebagian besar pneumonia komunitas dan meningitis, yaitu *S. pneumoniae* (Yeh dkk., 2009).

3) Hemolitik gamma ( $\gamma$ -hemolitik)

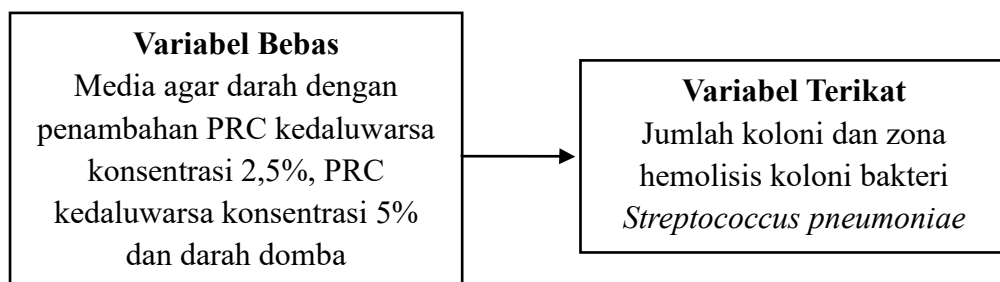
Bakteri yang tidak menghemolisis darah atau tidak terbentuk zona di sekitar koloni disebut sebagai  $\gamma$ -hemolitik (Yeh dkk., 2009).

## B. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

## C. Hubungan Antarvariabel



Gambar 5. Hubungan Antarvariabel

**D. Hipotesis**

Media agar PRC kedaluwarsa konsentrasi 2,5% dan media agar PRC kedaluwarsa konsentrasi 5% dapat digunakan sebagai alternatif pengganti darah domba untuk media kultur bakteri.