

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Media Pertumbuhan

1. Pengertian

Media proliferasi, sering disebut sebagai media kultur, adalah media pertumbuhan yang mengandung berbagai nutrisi yang diperlukan untuk pembentukan dan perkembangbiakan mikroorganisme seperti jamur dan bakteri. Di sisi lain, kultur adalah upaya untuk membudidayakan sel atau mikroorganisme secara *in vitro* dengan menggunakan media yang tepat (Atmanto dkk., 2022).

2. Karakteristik media

Media kultur memiliki karakteristik yaitu dapat menumbuhkan mikroorganisme dengan skala inokulasi yang kecil. Selain itu, karakteristik media kultur adalah dapat menumbuhkan mikroorganisme dengan waktu yang relatif singkat, mudah didapatkan, memiliki harga yang terjangkau serta mudah dibuat (Atmanto dkk., 2022).

Media kultur yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di laboratorium mengandung nutrisi yang beragam. Berikut adalah nutrisi yang diperlukan oleh mikroorganisme (Cappuccino, 2017):

a. Karbon

Karbon adalah bagian dari 50% berat kering bakteri dan karbon digunakan untuk membangun struktur seluler oleh beberapa organisme autotrofik. Autotrofik adalah organisme yang tumbuh didalam media yang mengandung komponen anorganik, khususnya karbon organik yang berbentuk karbon dioksida.

b. Nitrogen

Sumber nitrogen dapat berupa senyawa organik seperti pepton, urea dan trypton, serta senyawa anorganik seperti ammonium nitrat, ammonium sulfat, dan ammonium klorida (Yustinah dkk., 2016). Sel bakteri mengandung 13% nitrogen, nitrogen merupakan suatu bagian dari protein, asam nukleat, dan enzim. Protein berperan untuk pembentukan struktur seluler bakteri, asam nukleat yang meliputi DNA dan RNA sebagai genetika dasar kehidupan sel dan enzim yang berperan dalam metabolisme sel (Cappuccino, 2017). Sebagian besar nitrogen yang tersedia di alam berbentuk amonia, nitrat (NO_3^-) atau gas nitrogen (Madigan et al. 2014).

c. Unsur non logam

Dua elemen non-logam yang paling dibutuhkan bakteri adalah fosfor dan sulfur. Beberapa asam amino mengandung sulfur sebagai komponen penting. Asam amino yang mengandung sulfur dan sulfat, sumber sulfur anorganik, adalah sumber sulfur. Sedangkan, fosfor diperlukan oleh mikroorganisme untuk membantu sintesis asam nukleat seperti DNA dan RNA (Cappuccino, 2017).

d. Unsur logam

Agar proses seluler seperti osmoregulasi, regulasi aktivitas enzim, dan transfer elektron selama biooksidasi dapat terus berlangsung, sejumlah elemen logam diperlukan. Mikronutrien seperti kalsium (Ca), seng (Zn), natrium (Na), kalium (K), tembaga (Cu), mangan (Mn), magnesium (Mg), dan besi (Fe) merupakan contoh elemen logam (Cappuccino, 2017).

e. Vitamin dan air

Vitamin adalah senyawa kimia yang berfungsi sebagai sumber koenzim dan penting untuk perkembangan sel. Sedangkan, air digunakan sel mikroba dalam

bentuk air suling dalam media. Agar nutrisi dengan berat molekul rendah dapat melintasi membran sel dalam medium, diperlukan air (Cappuccino, 2017).

f. Energi

Aktivitas metabolisme sel seperti transport aktif, biosintesis, dan degradasi makromolekul memerlukan energi dalam kegiatannya. Sehingga, media pertumbuhan harus difasilitasi energi yang cukup untuk keberlangsungan aktivitas metabolisme sel mikroba. Terdapat 2 jenis mikroorganisme bioenergi yaitu fototrof yang menggunakan energi berupa energi radiasi dan kemotrof yang bergantung kepada oksidasi kimia sebagai sumber energinya seperti glukosa, H_2S dan $NaNO_3$ (Cappuccino, 2017).

3. Jenis media

Ada beberapa cara untuk mengklasifikasikan media pertumbuhan mikroorganisme, termasuk keseragaman, susunan kimiawi, dan fungsi.

a. Berdasarkan konsistensi

Media kultur tersedia dalam bentuk cair, semi-padat, dan padat. Hal tersebut berdasarkan atas penambahan bahan pematat seperti agar atau gelatin untuk memadatkan media (Cappuccino, 2017).

1) Media Cair

Media cair adalah media tanpa penambahan pematat, biasanya digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di permukaan atau tersuspensi dalam media cair. Contoh media cair adalah *Nutrient Broth* (NB) dan *Lactose Broth* (LB). Laju perkembangbiakan dan deposit sel bakteri sering kali diamati dengan menggunakan media cair. Media cair juga biasanya digunakan sebelum melakukan kultur antigen atau vaksin (Atmanto dkk., 2022).

2) Media Padat/Solid

Media padat atau media solid adalah media yang ditambahkan dengan agar 15%, sehingga setelah media dingin akan memadat. Salah satu contoh media padat adalah *Nutrient Agar* (NA), *Blood Agar Plate* (BAP) dan *MacConkey Agar*. Penggunaan media padat bertujuan untuk menjaga sel mikroorganisme agar tidak berpindah sehingga mempermudah pada saat menghitung koloni. Media agar cawan, media agar miring, dan media agar tegak adalah tiga jenis media padat yang dapat dipisahkan menurut bentuk dan penggunaannya (Atmanto dkk., 2022)

3) Media Semi Padat

Media yang mengandung zat pemat, seperti agar, dengan konsentrasi 0,3-0,4% disebut sebagai media semi-padat. Hasilnya, media menjadi agak kenyal daripada padat atau cair. Bakteri ditumbuhkan pada media semi-padat dengan tujuan untuk menyebar di atasnya, tetapi tidak sepenuhnya tersuspensi jika dipindahkan (Atmanto dkk., 2022)

b. Berdasarkan Susunan Kimia

Menurut Kusumo dkk., (2022) berdasarkan atas susunannya, media pertumbuhan dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu:

1) Media alami

Media yang dibuat dari elemen alam yang komposisinya tidak pasti disebut sebagai media alami atau non-sintesis. Biasanya, media alami diambil langsung dari sumbernya.

2) Media sintesis

Media yang terbuat dari komponen kimia dan memiliki komposisi dan dosis yang diketahui disebut sebagai media sintesis. Seperti misalnya *Mac Conkey Agar*, *Glukose Agar* dan lainnya.

3) Media semi sintesis

Media yang terdiri dari komponen alami dan sintetis disebut sebagai media semi-sintesis. Media *Potato Dextrose Agar* (PDA), campuran dekstrosa, agar (pemadat), dan ekstrak kentang, adalah contoh media semi-sintesis.

c. Berdasarkan Fungsi

Media pertumbuhan dapat dibagi menjadi banyak kategori sesuai dengan tujuannya, termasuk:

1) Media basal (dasar)

Media yang biasanya digunakan sebagai fondasi untuk media yang lebih rumit dikenal sebagai media basal. Hampir semua mikroorganisme dapat tumbuh dalam media basal. *Nutrient Agar* (NA), kaldu pepton, dan *nutrient broth* (NB) adalah beberapa contoh media jenis ini (Atmanto dkk., 2022)

2) Media selektif

Dengan menambahkan bahan kimia untuk membasmi kelompok bakteri lain, media selektif digunakan untuk mengisolasi spesies bakteri tertentu (Cappuccino, 2017).

3) Media *differential*

Tujuan dari media diferensial adalah untuk membedakan antara kelompok organisme yang memiliki karakteristik morfologi dan biokimia yang sama. Untuk mengidentifikasi dan membedakan bakteri, warna atau bahan kimia tertentu telah ditambahkan ke dalam media ini, yang akan mengubah ciri-ciri atau pola

pertumbuhan organisme. Koloni pada media pertumbuhan dapat menunjukkan karakteristik ini dalam hal warna dan bentuk. Perbedaan karakter ini berfungsi sebagai dasar untuk proses identifikasi selanjutnya dan menjadi langkah penting dalam proses *diferensiasi* (Atmanto dkk., 2022).

4) Media *enrichment*/Diperkaya

Media yang memiliki zat tertentu yang ditambahkan ke dalamnya untuk mendorong perkembangan mikroorganisme yang diinginkan dikenal sebagai media yang diperkaya. Hal ini dilakukan untuk mendorong perkembangan beberapa mikroorganisme dalam campuran mikroorganisme yang berbeda, seperti air pepton alkali, media cokelat, dan ekstrak ragi-agar kalium nitrat (Atmanto dkk., 2022).

B. Media *Mannitol Salt Agar*

Mannitol Salt Agar atau MSA adalah media diferensial dan selektif yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *S. aureus* di laboratorium. Berdasarkan lembar data keselamatan MSA, dalam 1 liter media MSA mengandung *peptone* sebanyak 10 g, *beef meat extract* sebanyak 1 g, *sodium chloride* sebanyak 75 g, *mannitol* sebanyak 10 g, *phenol red* sebanyak 0,025 g dan agar sebanyak 15 g dengan nilai pH $7,5 \pm 0,2$. Sementara natrium klorida mengontrol tekanan osmosis dan memilih bakteri yang dapat mentoleransi kadar garam yang tinggi, *pepton* dan ekstrak daging sapi berfungsi sebagai sumber nitrogen. Dalam media MSA, manitol bertindak sebagai sumber karbon. Sementara itu, ketika nilai pH media berubah, *fenol* merah digunakan sebagai indikasi. Untuk media MSA, agar-agar dalam media berfungsi sebagai pematat (Abdilah & Kurniawan, 2021).

Karakteristik media MSA yang baik adalah dapat menumbuh bakteri *S. aureus* dengan diameter 4 mm dalam waktu 24 jam, kemudian dapat menyediakan

mannitol yang cukup sehingga bakteri *S. aureus* mampu menghasilkan pigmen *lipochrom* yang ditunjukkan melalui warna koloni yang tumbuh berwarna kuning dengan dikelilingi zona kuning. Selain itu, media MSA dapat menghambat pertumbuhan bakteri non-halofik karena adanya kandungan garam yang tinggi (Abdilah & Kurniawan, 2021).

C. Ubi jalar



Gambar 1 Tanaman ubi jalar

(sumber : (Sarwanto & Tuswati, 2021))

Ubi jalar dengan nama latin *Ipomoea batatas L.* adalah salah satu jenis tanaman yang tumbuh dengan merambat, yang mana akarnya membentuk umbi dan merambat diatas tanah (Aisy dkk., 2023). Berikut adalah klasifikasi dari ubi jalar menurut *United States Department of Agriculture*:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Superdivision</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magoliopsida</i>
<i>Subclass</i>	: <i>Asteridae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Solanales</i>

Family : *Convolvulaceae*

Genus : *Ipomoea L.*

Spesies : *Ipomoea batatas (L.) Lam.*

Pati adalah bahan utama ubi jalar. Ubi jalar juga merupakan sumber mineral yang baik seperti kalsium, garam, fosfor, dan zat besi, serta vitamin A, yang ditemukan dalam ubi jalar kuning sebagai betakaroten (Damayanti dkk., 2018).

D. Ubi Jalar Kuning



Gambar 2 Ubi Jalar Kuning

(sumber : (Sulistiono dkk., 2023))

Ubi jalar kuning adalah salah satu dari berbagai jenis ubi jalar yang dapat dibedakan berdasarkan warna dagingnya. Ubi jalar kuning adalah jenis ubi jalar dengan daging umbi berwarna kuning pucat atau putih kekuningan. Ubi jalar kuning mengandung 24,58% total karbohidrat, 0,68% lemak, 0,49% protein, 68,78% air, 0,99% abu, 2,79% serat, 25,00 mg/100g vitamin C, dan 9.000 SI vitamin A. Semuanya ada dalam ubi jalar kuning segar (Saloko dkk., 2022).

Berikut adalah klasifikasi dari ubi jalar kuning menurut (Aguoru dkk., 2015):

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Tracheobionta*

<i>Superdivision</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magoliopsida</i>
<i>Subclass</i>	: <i>Asteridae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Solanales</i>
<i>Family</i>	: <i>Convolvulaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Ipomoea L.</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Ipomoea batatas var Makurdi</i>

Ada beberapa penelitian yang menggunakan ubi jalar sebagai substrat untuk pertumbuhan bakteri, termasuk salah satunya oleh (Arum & Wahyudi, 2022) Penelitian ini membahas tentang penggunaan ubi jalar putih dan kuning untuk membantu bakteri *Staphylococcus aureus* berkembang biak. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa ubi jalar putih dan kuning dapat digunakan sebagai media untuk pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Ubi jalar putih dan kuning, bagaimanapun, memiliki kapasitas yang berbeda untuk menumbuhkan bakteri *S. aureus*. Menurut penelitian, ubi jalar putih lebih baik dalam menumbuhkan kuman *S. aureus* daripada ubi jalar kuning. Oleh karena itu, media yang digunakan penulis dalam penelitian ini adalah ubi jalar kuning.

E. Kaldu daging

Kaldu adalah produk atau ekstrak yang terbuat dari daging hewan, seperti daging sapi dan unggas, yang dimasak dengan atau tanpa tambahan bumbu, natrium klorida, dan rempah-rempah untuk meningkatkan cita rasa. Kaldu sapi adalah jenis kaldu daging yang digunakan. Protein (16-22%), lemak (1,5-13%), mineral, serta vitamin A dan B semuanya ada dalam daging sapi. Dibandingkan dengan protein

nabati, protein hewani-termasuk daging sapi-memiliki keunggulan karena memiliki asam amino yang lengkap, seimbang, dan lebih mudah dicerna (Permata dkk., 2019).

SNI 3932-2008, yang mengatur kualitas karkas dan daging, membagi potongan daging sapi ke dalam tiga kelas: I, II, dan III. Potongan kelas daging menurut SNI 3932-2008 tercantum di bawah ini:

- a) Potongan Kelas I meliputi lamusir (gulungan kubus), striploin/sirloin (bagian luar), dan tenderloin (bagian dalam).
- b) Tanjung (rump), Kelapa (round), Penutup (top side), Pendasar (silverside), Gandik (eye round), Kijen (chuck tender), Sampil besar (chuck), dan Sampil kecil (blade) merupakan potongan daging yang termasuk ke dalam Kelas II.
- c) Kelas III terdiri dari Sengkel (*shin/shank*), Daging giga (*rib meat*), Samcan (*thin flank*) dan Sandung lamur (*brisket*).

F. Natrium Klorida

Natrium klorida adalah zat ionik yang memiliki rumus NaCl. Larutan elektrolit yang menghasilkan ion Na^+ dan Cl^- adalah larutan NaCl. Kation utama yang ditemukan dalam darah dan cairan ekstraseluler tubuh adalah ion Na^+ . Di laboratorium bakteriologi, larutan NaCl biasanya digunakan sebagai pengencer pewarna Giemsa, suspensi bakteri dan kurva standar bakteri turbidimetri (Sugianto & Wismaya, 2023).

Kandungan garam yang tinggi pada media pertumbuhan dapat menyebabkan tingginya tekanan osmotik dan menurunkan afinitas air. Akibatnya, tidak semua mikroorganisme dapat bertahan dalam konsentrasi garam yang tinggi. *Staphylococcus aureus* adalah salah satu jenis bakteri yang dapat bertahan dalam

konsentrasi garam yang tinggi. Pada suatu penelitian ditemukan bahwa NaCl dengan konsentrasi 15% dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA) (Amalia dkk., 2016). Sehingga pada penelitian ini digunakan konsentrasi yang lebih rendah dari 15% dan sama dengan konsentrasi NaCl pada media MSA yaitu sebesar 7,5%.

G. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah salah satu spesies dari bakteri *Staphylococcus* yang paling patogen dibandingkan dengan spesies *Staphylococcus* lainnya. Bakteri ini termasuk kedalam bakteri fakultatif anaerob, sehingga bakteri *S. aureus* dapat tumbuh dengan ataupun tanpa oksigen. *S. aureus* termasuk kedalam bakteri gram positif, sehingga apabila diwarnai dengan pewarnaan gram akan menunjukkan warna ungu dan berbentuk bulat dengan susunan yang berkelompok menyerupai buah anggur jika dilihat pada mikroskop. Bakteri ini dinamakan aureus karena dapat menghasilkan suatu pigmen yang berwarna kuning atau keemasan (Rinihapsari dkk., 2023).

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diisolasi pada media selektif diferensial yaitu media *Mannitol Salt Agar*. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada pH 4,2-9,3 dalam waktu 24 jam dengan suhu 6,5- 46° C. Koloni akan tumbuh dengan diameter 4 mm, berbentuk bulat dengan elevansi cembung, halus dan berkilau. Bakteri ini dapat menghasilkan pigmen *lipochrom* yang ditunjukkan melalui warna koloni yang tumbuh pada media MSA akan berwarna kuning dengan dikelilingi zona kuning (Abdilah & Kurniawan, 2021).

Berikut adalah klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus*:

Kingdom : *Bacteria*

Phylum : *Bacillota*
Class : *Bacilli*
Order : *Caryophanales*
Family : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 3 Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media MSA

(sumber : (Lasmini dkk., 2022))

Bakteri *S. aureus* tidak berspora dan tidak memiliki flagel. Karena kemampuannya untuk berkembang biak, menembus jaringan, dan menghasilkan protein ekstraseluler, bakteri ini berpotensi menyebabkan penyakit. Berikut adalah toksin yang dihasilkan oleh bakteri *S. aureus* dalam melakukan invasi terhadap sel inang dan menghindari eliminasi oleh pertahanan sel inang (Husna, 2018):

4. α toksin

Racun yang dikenal sebagai α toksin memiliki kemampuan untuk merusak membran jaringan inang. Produksi mediator inflamasi akan dipercepat jika toksin ini menempel pada sel inang, sehingga memicu respons sekunder yang melepaskan sitokin. Toksin ini bersifat litik terhadap sel darah merah (hemolisin) dan serangkaian leukosit (leukotoksin).

5. β toksin

β toksin berperan sebagai Sfingomielinase dan ligase biofilm. Aktivitas ligase biofilm dari β toksin mengacu pada kemampuannya untuk melakukan oligomerisasi dan membentuk agregat yang mendorong pembentukan biofilm.

6. Stafilokinase dan Koagulase

Stafilokinase adalah enzim yang dihasilkan oleh bakteri *S. aureus* untuk mengaktivasi plasminogen menjadi plasmin yang dapat melisiskan bekuan fibrin. Bakteri *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan koagulase yang berkontribusi dalam pembentukan bekuan fibrin. Dengan adanya bekuan fibrin, maka akan menghambat mekanisme fagositosis dan menyebabkan pembentukan abses (Otto, 2014).

7. Enzim ekstraseluler lain

Enzim pengubah asam lemak, lipase, protease, dan DNase semuanya diproduksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Enzim-enzim ini membantu bakteri menghasilkan nutrisi pertumbuhan dan berfungsi sebagai mekanisme pertahanan diri untuk bakteri *S. aureus*.

H. Pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan adalah proses pertambahan jumlah atau volume serta ukuran dari suatu hal. Dalam hal ini pertumbuhan bakteri merujuk kepada adanya pertambahan jumlah dan ukuran sel bakteri (Mahjani & Hilda Putri, 2020).

1. Faktor pendukung pertumbuhan bakteri

Bakteri dapat tumbuh apabila terdapat lingkungan yang mendukung untuk pertumbuhan bakteri. Berikut adalah faktor fisik yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri:

a. Suhu

Suhu akan mempengaruhi aktivitas enzim sel secara linier. Apabila terjadi peningkatan suhu, maka aktivitas enzim akan meningkat dan akan terjadi proses denaturasi pada struktur proteinnya. Inaktivasi enzim akan terjadi dan metabolisme sel akan semakin melambat jika suhu turun ke titik beku. Sebagian besar bakteri dapat hidup pada suhu minus 5° C hingga 80° C, dan suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri berada pada *range* suhu 35-40° Celcius (Cappuccino, 2017).

b. pH

Aktivitas enzim seluler yang diperlukan oleh bakteri untuk mengkatalisis proses yang berhubungan dengan pertumbuhan akan dipengaruhi oleh tingkat pH. Kisaran pH 6,5 hingga 7,5 sangat ideal untuk pertumbuhan bakteri (Cappuccino, 2017).

c. Oksigen

Bakteri memiliki kebutuhan oksigen yang berbeda-beda, berdasarkan kebutuhan oksigennya bakteri dikelompokkan menjadi beberapa bagian (Cappuccino, 2017) yaitu:

1) Bakteri aerob

Untuk memecah senyawa seperti glukosa, enzim bakteri ini membutuhkan oksigen sebagai akseptor hidrogen. Oleh karena itu, bakteri yang membutuhkan oksigen untuk berkembang dikenal sebagai bakteri aerobik,

2) Bakteri mikroaerofil

Bakteri yang diklasifikasikan sebagai mikroaerofil membutuhkan oksigen untuk berkembang, tetapi dalam jumlah yang sedikit. Keberadaan oksigen yang melebihi kebutuhan bakteri akan menyebabkan aktivitas enzim menjadi terhambat.

3) Bakteri obligat anaerob

Bakteri yang tidak membutuhkan oksigen untuk berkembang dikenal sebagai bakteri anaerob obligat. Ketika ada oksigen, produk metabolisme yang berbahaya akan diproduksi.

4) Bakteri anaerob fakultatif

Bakteri anaerob fakultatif adalah suatu bakteri yang dapat tumbuh dengan oksigen atau tanpa oksigen. Dalam lingkungan dengan kadar oksigen yang rendah, bakteri akan melakukan respirasi secara anaerobic dan memanfaatkan senyawa seperti nitrat dan sulfat sebagai reseptor hidrogennya.

2. Fase pertumbuhan bakteri

Dalam masa pertumbuhannya, bakteri memiliki 4 fase yaitu:

a. Fase *lag*

Bakteri beradaptasi dengan lokasi pertumbuhan baru selama fase *lag*, yang juga dikenal sebagai fase penyesuaian. peningkatan produksi enzim melalui mekanisme metabolisme. Tidak ada pertumbuhan jumlah sel selama fase ini karena pembelahan sel belum terjadi (Cappuccino, 2017).

b. Fase eksponensial

Fase pembelahan biner reproduksi dikenal sebagai fase eksponensial. Sel-sel akan menggunakan nutrisi dalam medium untuk berkembang biak selama fase ini. Fase ini rata-rata akan berlangsung sekitar 6-12 jam (Cappuccino, 2017).

c. Fase stationer

Fase stationer adalah fase yang terjadi ketika laju pertumbuhan setara dengan laju kematian sel, sehingga tidak terjadi peningkatan jumlah bakteri.

d. Fase kematian

Fase kematian terjadi karena berkurangnya jumlah nutrisi pada media pertumbuhan, sehingga akan terjadi penurunan jumlah sel mikroba secara signifikan menyerupai fase eksponensial.