

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri

2.1.1 Definisi

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak mempunyai selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetic berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoid. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas ekson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler. Bakteri adalah organisme yang paling banyak jumlahnya dan tersebar luas dibandingkan makhluk hidup lainnya. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di gurun pasir, salju atau es, hingga lautan (Maryati, 2007). Bakteri yang keberadaanya banyak sekali ini, memungkinkan untuk menjadi salah satu penyebab penyakit pada manusia (Radji, 2011). Bakteri yang menyebabkan penyakit pada manusia adalah bakteri patogen (Darmadi, 2008).

2.1.2 Struktur bakteri

- 1) **Inti/nukleus:** Badan inti tidak mempunyai dinding inti/membran inti. Didalamnya terdapat benang DNA yang panjangnya kira-kira 1 mm.
- 2) **Sitoplasma:** Tidak mempunyai mitokondria atau kloroplast; sehingga enzim-enzim untuk tranport elektron bekerja di membran sel
- 3) **Membran Sitoplasma:** Terdiri dari fosfolipid dan protein. Berfungsi sebagai transport bahan makanan, tempat transport elektron, biosintesis DNA, dan kemotaktik. Terdapat mesosom yang berperan dalam pembelahan sel.
- 4) **Dinding Sel:** Terdiri dari lapisan peptidoglikan, berfungsi untuk menjaga tekanan osmotik, pembelahan sel, biosintesis, determinan dari antigen permukaan bakteri; pada bakteri Gram-negatif, salah satu lapisan dinding sel mempunyai aktivitas endotoksin yang tidak spesifik, yaitu lipopolisakarida yang bersifat toksik.
- 5) **Kapsul:** Disintesis dari polimer ekstrasel yang berkondensasi dan membentuk lapisan di sekeliling sel, sehingga bakteri lebih tahan terhadap efek fagositosis.

- 6) **Flagel:** Berbentuk seperti benang, yang terdiri dari protein berukuran 12-30 nanometer. Flagel adalah alat pergerakan. Protein dari flagel disebut flagelin.
- 7) **Pili/fimbriae:** Berperan dalam adhesi bakteri dengan sel tubuh hospes dan konjugasi 2 bakteri.
- 8) **Endospora:** Beberapa genus dapat membentuk endospora. Bakteri-bakteri ini mengadakan diferensiasi membentuk spora bila keadaan lingkungannya menjadi jelek, misalnya bila medium sekitar kekurangan nutrisi. Spora bersifat sangat resisten terhadap panas, kekeringan dan zat kimiawi. Bila kondisi lingkungan telah baik, spora dapat kembali melakukan germinasi dan memproduksi sel vegetatif.

2.1.3 Klasifikasi

Untuk memahami beberapa kelompok organisme, diperlukan klasifikasi. Tes biokimia, pewarnaan Gram, merupakan kriteria yang efektif untuk klasifikasi. Hasil pewarnaan mencerminkan perbedaan dasar dan kompleks pada permukaan sel bakteri (struktur dinding sel), sehingga dapat membagi bakteri menjadi 2 kelompok, yakni Gram-positif dan Gram-negatif.

Prosedur pewarnaan Gram dimulai dengan pemberian pewarnaan basa, *crystal violet*. Semua bakteri akan terwarnai biru pada fase ini kemudian dicuci dengan air. Larutan iodine kemudian ditambahkan, dicuci kembali dengan air dan dilanjutkan dengan pemberian alkohol. Sel Gram-positif akan tetap mengikat senyawa *crystal violet-iodine*, tetap berwarna biru; sel Gram-negatif warnanya hilang oleh alkohol. Sebagai langkah terakhir, *counterstain* (misalnya safranin pewarna merah) ditambahkan, sehingga Gram-negatif yang tidak berwarna, akan mengambil warna merah; sedangkan sel Gram-positif terlihat sebagai warna biru.

1. Bakteri Gram-negatif

a) Bakteri Gram-negatif Berbentuk Batang (*Enterobacteriaceae*)

Bakteri Gram-negatif berbentuk batang habitat alaminya berada pada sistem usus manusia dan binatang. Keluarga *Enterobacteriaceae* meliputi banyak jenis (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, dll). Beberapa organisme, misalnya *Escherichia coli* merupakan flora normal dan menyebabkan penyakit, sedangkan yang lain seperti *salmonella* dan *shigella* merupakan patogen yang umum bagi manusia.

- b) *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, dan Bakteri Gram-negatif lain

Pseudomonas aeruginosa bersifat invasif dan toksigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh, dan merupakan patogen nosokomial yang penting. *Chromobacteria* dan *Chryseobacteria* ditemukan di tanah dan air, dan merupakan bakteri patogen yang oportunistik bagi manusia. Bakteri lain, *Capnocytophaga*, *Eikenella corrodens*, *Kingella*, dan *Moraxella* tumbuh normal pada manusia namun dapat menyebabkan variasi infeksi yang luas.

- c) *Vibrio*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, dan Bakteri lain yang berhubungan.

Mikroorganisme ini merupakan spesies berbentuk batang Gram-negatif yang tersebar luas di alam. *Vibrio* ditemukan di daerah perairan dan permukaan air. *Aeromonas* banyak ditemukan di air segar dan terkadang pada hewan berdarah dingin. *Plesiomonas* terdapat pada hewan berdarah dingin dan panas. *Campylobacter* ditemukan di banyak spesies hewan, termasuk hewan peliharaan. *Haemophilus*, *Bordetella*, dan *Brucella* Merupakan kelompok bakteri pleiomorfik kecil, Gram-negatif. *Haemophilus influenzae* tipe b merupakan patogen manusia yang penting.

- d) *Yersinia*, *Francisella* dan *Pasteurella*

Merupakan bakteri berbentuk batang pendek Gram-negatif yang pleiomorfik. Organisme ini bersifat katalase positif, oksidase positif, dan merupakan bakteri mikroaerofilik atau anaerob fakultatif.

2. Bakteri Gram-positif

- a) Bakteri Gram-positif Pembentuk Spora: Spesies *Bacillus* dan *Clostridium*

Basil Gram-positif pembentuk spora mencakup spesies *Bacillus* dan *Clostridium*. Kedua spesies ini ada dimana-mana, membentuk spora sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun. Spesies *Bacillus* bersifat aerob, sedangkan *Clostridia* bersifat anaerob obligat.

- b) Bakteri Gram-positif Tidak Membentuk Spora: Spesies *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Actinomycetes*

Beberapa anggota genus *Corynebacterium* dan kelompok spesies *Propionibacterium* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. *Corynebacterium diphtheriae* memproduksi eksotoksin yang sangat kuat dan menyebabkan difteria pada manusia. *Listeria monocytogenes* dan *Erysipelothrix rhusiopathiae* ditemukan pada binatang

dan kadang menyebabkan penyakit yang berat pada manusia. Golongan *Listeria* dan *Erysipelothrix* tumbuh dengan baik di udara.

c) *Staphylococcus*

Merupakan sel Gram-positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam bentuk bergerombol yang tidak teratur seperti anggur. Beberapa spesies merupakan anggota flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia; yang lain menyebabkan supurasi dan bahkan septikemia fatal. *Staphylococcus* yang patogen sering menghemolisis darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler dan toksin yang stabil terhadap panas. *Staphylococcus* cepat menjadi resisten terhadap beberapa antimikroba.

Genus *Staphylococcus* sedikitnya memiliki 30 spesies. Tiga tipe *Staphylococcus* yang berkaitan dengan medis adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. *Staphylococcus aureus* bersifat koagulase positif, dan merupakan patogen utama pada manusia. *Staphylococcus* koagulase negatif merupakan flora normal manusia dan kadang-kadang menyebabkan infeksi, misalnya *Staphylococcus epidermidis*.

d) *Streptococcus*

Streptococcus merupakan bakteri Gram-positif berbentuk bulat, yang mempunyai karakteristik dapat membentuk pasangan atau rantai selama pertumbuhannya. Bakteri ini beberapa di antaranya merupakan anggota flora normal manusia; sedang *Streptococcus* yang lain berhubungan dengan penyakit pada manusia.

Ada 20 jenis *streptococcus*, di antaranya *Streptococcus pyogenes* (Group A), *Streptococcus agalactiae* (Group B) dan jenis *Enterococcus* (Group D). Mikroorganisme tersebut memiliki berbagai tampilan yang bervariasi dalam hal karakteristik koloni pertumbuhan, pola hemolisis pada media agar darah, komposisi antigen dalam substansi dinding sel dan reaksi biokimia. Jenis *Streptococcus pneumoniae* (*pneumococcus*) diklasifikasikan berdasarkan komposisi antigen polisakarida pada kapsul.

2.1.4 *Escherichia coli*

E. coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek, tumbuh baik pada MacConkey Agar (MCA) dengan bentuk koloni bulat dan cembung, bersifat

memfermentasikan laktosa. *E. coli* memiliki panjang 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4 – 0,7 μm , dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz dkk., 2007).

Bakteri *E. coli* berperan mengurangi pertumbuhan bakteri jahat dan mempercepat pembusukan di usus besar manusia. *E.coli* Dapat tumbuh berlebih apabila seseorang mengkonsumsi makanan yang sudah terkontaminasi dengan bakteri tersebut seperti susu, makanan yang tidak diolah dengan sempurna, ataupun makanan dan minuman yang tercemar oleh feses (Jawetz, 2005). Bakteri ini dapat menjadi pathogen apabila terdapat banyak sekali didalam tubuh manusia. *E.coli* dapat tumbuh pada suhu tinggi maupun rendah, dengan suhu rendah 7°C dan suhu tinggi hingga 44°C. Namun bakteri *E.coli* tumbuh optimal pada suhu antara 35-37°C dengan pH 7-7,5. Hidup dilingkungan lembab dan akan mati saat terjadinya proses pemanasan makanan (Sofiana, 2012). Bakteri ini memiliki kode ATCC 25922 (00013).

2.1.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bulat atau lonjong dan memiliki diameter sebesar 0.8-0.9 μm . Bakteri ini termasuk dalam jenis bakteri yang tidak bergerak (nonmotil), tidak memiliki simpai dan spora (Gupte, 1990). *Staphylococcus aureus* pada pewarnaan Gram bersifat gram positif dan jika diamati di bawah mikroskop akan terlihat bentuk bulat-bulat bergerombol seperti anggur (Soedarto, 2015).

Bakteri *Staphylococcus aureus* bersifat aerob atau anaerob fakultatif, katalase positif serta dapat hidup pada lingkungan dengan kadar garam tinggi (halofilik), misalnya pada NaCl 10% (FK UNIBRAW, 2003). Bakteri ini juga tahan hidup pada kekeringan dan panas sampai suhu 50°C (Soedarto, 2015). Namun bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh optimum pada suhu 37°C dan pH 7.4 (Gupte, 1990).

Staphylococcus sp. bersifat katalase positif, hal ini yang membedakan bakteri *Staphylococcus sp.* dengan *Streptococcus sp.* Bakteri ini mampu memfermentasikan karbohidrat, menghasilkan asam laktat dan tidak menghasilkan gas (Brooks dkk., 2005). Bakteri ini memiliki kode ATCC 25923 (00034).

2.2 Manfaat bakteri bagi manusia

Bakteri merupakan mikroorganisme yang walaupun bersifat patogen, tak ayal juga memiliki beberapa manfaatnya tersendiri. Diantaranya sebagai antibiotic, bakteri pengurai, bakteri pembantu proses fermentasi, bakteri nitrifikasi, dan bakteri nitrogen.

2.2.1 Sebagai bahan untuk membuat antibiotik

Bakteri memberikan manfaat dibidang kesehatan yaitu antibiotik. Antibiotik merupakan zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan mempunyai daya hambat terhadap kegiatan mikroorganisme lain dan senyawa ini banyak digunakan dalam menyembuhkan suatu penyakit. Beberapa bakteri yang menghasilkan antibiotik adalah *Streptomyces griseus*, menghasilkan antibiotik streptomycin, *Streptomyces aureofaciens*, menghasilkan antibiotik tetracycline, *Streptomyces venezuelae*, menghasilkan antibiotik chloramphenicol, *Penicillium*, menghasilkan antibiotik penisilin dan *Bacillus polymyxa*, menghasilkan antibiotik polymixin.

2.2.2 Bakteri pengurai

Bakteri saprofit menguraikan tumbuhan atau hewan yang mati, serta sisa-sisa atau kotoran organisme. Bakteri tersebut menguraikan protein, karbohidrat dan senyawa organik lain menjadi CO₂, gas amoniak, dan senyawa-senyawa lain yang lebih sederhana. Oleh karena itu keberadaan bakteri ini sangat berperan dalam mineralisasi di alam (Poernomo, 2004)

2.2.3 Bakteri pembantu proses fermentasi

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram-positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Berdasarkan taksonomi, terdapat sekitar 20 genus bakteri yang termasuk BAL. Beberapa BAL yang sering digunakan dalam pengolahan pangan adalah *Aerococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella*. Contoh produk makanan yang dibuat menggunakan bantuan BAL adalah yogurt, keju, mentega, sour cream (susu asam), dan produk fermentasi lainnya. Dalam pengolahan makanan, BAL dapat melindungi dari pencemaran bakteri patogen, meningkatkan nutrisi, dan berpotensi memberikan dampak positif bagi Kesehatan manusia (Fardiaz, 1992).

Berdasarkan studi genetika, beberapa sifat BAL yang berhubungan dengan fermentasi cenderung disandikan oleh gen-gen di plamid (DNA ekstrakromosomal). Sifat-sifat yang dimaksud meliputi produksi proteinase, metabolisme karbohidrat, transpor sitrat, produksi eksopolisakarida, produksi bakteriosin, dan resistensi terhadap bakteriofag. DNA plasmid dapat ditransfer antarbakteri dengan beberapa mekanisme, seperti konjugasi yang umum terjadi pada *Lactococcus* sehingga sifat-sifat tersebut dapat menyebar (Fardiaz, 1992)

2.2.4 Bakteri nitrifikasi

Bakteri nitrifikasi adalah bakteri-bakteri tertentu yang mampu Menyusun senyawa nitrat dari amoniak yang berlangsung secara aerob di dalam tanah. Nitrifikasi terdiri atas dua tahap yaitu:

- 1) Oksidasi amoniak menjadi nitrit oleh bakteri nitrit. Proses ini dinamakan nitritasi.



Reaksi nitritasi

- 2) Oksidasi senyawa nitrit menjadi nitrat oleh bakteri nitrat. Prosesnya dinamakan nitratasi.



(Nitrit) (nitrat)

Reaksi nitratasi

Dalam bidang pertanian, nitrifikasi sangat menguntungkan karena menghasilkan senyawa yang diperlukan oleh tanaman yaitu nitrat. Tetapi sebaliknya di dalam air yang disediakan untuk sumber air minum, nitrat yang berlebihan tidak baik karena akan menyebabkan pertumbuhan ganggang di permukaan air menjadi berlimpah (Poernomo, 2004).

2.2.5 Bakteri nitrogen

Bakteri nitrogen adalah bakteri yang mampu mengikat nitrogen bebas dari udara dan mengubahnya menjadi suatu senyawa yang dapat diserap oleh tumbuhan. Karena kemampuannya mengikat nitrogen di udara, bakteri-bakteri tersebut berpengaruh terhadap nilai ekonomi tanah pertanian. Kelompok bakteri ini ada yang hidup bebas maupun simbiosis (Afrianto, 2002).

Bakteri nitrogen yang hidup bebas yaitu *Azotobacter chroococcum*, *Clostridium pasteurianum*, dan *Rhodospirillum rubrum*. Bakteri nitrogen yang hidup bersimbiosis dengan tanaman polong-polongan yaitu *Rhizobium*

leguminosarum, yang hidup dalam akar membentuk nodul atau bintil-bintil akar. Tumbuhan yang bersimbiosis dengan *Rhizobium* banyak digunakan sebagai pupuk hijau seperti *Crotalaria*, *Tephrosia*, dan *Indigofera*. Akar tanaman polong-polongan tersebut menyediakan karbohidrat dan senyawa lain bagi bakteri melalui kemampuannya mengikat nitrogen bagi akar. Jika bakteri dipisahkan dari inangnya (akar), maka tidak dapat mengikat nitrogen sama sekali atau hanya dapat mengikat nitrogen sedikit sekali. Bintil-bintil akar melepaskan senyawa nitrogen organik ke dalam tanah tempat tanaman polong hidup. Dengan demikian terjadi penambahan nitrogen yang dapat menambah kesuburan tanah (Afrianto, 2002).

2.3 Media pertumbuhan bakteri

2.3.1 Proses pertumbuhan bakteri

Pada pertumbuhan bakteri dibutuhkan media yang tepat untuk pertumbuhannya. Nutrien yang diperlukan sel bakteri harus larut dalam air agar dapat memasuki sel bakteri tersebut. Zat makanan yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri harus mengandung sumber karbon, sumber nitrogen, mineral dan faktor pertumbuhan yang meliputi asam amino, purin, pirimidin dan vitamin. (Brooks dkk, 2013). Pertumbuhan bakteri mengalami 4 fase pertumbuhan yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase perbanyakan (*exponential / log phase*), fase stasioner (*static phase*) dan fase kematian (*death phase*)

a) Fase adaptasi (*Lag phase*)

Fase adaptasi dapat dilewati apabila sel bakteri yang akan ditanam berada di fase perbanyakan (*Log phase*) kemudian dipindah pada media dengan komposisi sama. Meskipun sel-sel ini meningkat ukurannya, tidak terjadi pembelahan sel sehingga tidak terjadi peningkatan jumlah sel (Cappuccino dan Sherman, 2013). Selama fase ini terlihat :

- (1) Bertambahnya ukuran sel
- (2) Bertambahnya kegiatan metabolisme
- (3) Penyesuaian terhadap lingkungan baru dan pembentukan enzim-enzim dan metabolit-metabolit antara yang dibutuhkan untuk berlangsungnya perkembangan biakan

b) Fase perbanyakan (*Log phase*)

Sel bakteri berada dalam kondisi ideal dalam pertumbuhannya, maka sel melakukan pembelahan karena sel merupakan persamaan eksponensial maka

fase ini disebut fase ekponensial. Pada fase ini merupakan periode pembiakan cepat dan biasanya di dalamnya terdapat ciri-ciri sel yang aktif. Perbanyakkan sel dengan cara melakukan konsumsi nutrisi dan proses fisiologis lainnya.

c) Fase Statis (*Static phase*)

Fase statis terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Sehingga jumlah bakteri keseluruhan bakteri akan tetap (Riadi, 2016). Laju pertumbuhan bakteri terbatas karena nutrisi habis, penurunan kadar oksigen, penurunan ketersediaan air dan akumulasi zat toksik yang dihasilkan bakteri.

d) Fase kematian (*Death phase*)

Laju kematian melampaui laju pertumbuhan sel. Pada fase ini, biasanya pertumbuhan sel berhenti. Penyebab utama kematian sel adalah autolisis sel, penurunan energi seluler dan penumpukan zat toksik (Johnson dkk, 2011).

2.3.2 Macam macam media pertumbuhan

Media mengandung nutrisi penting untuk pertumbuhan bakteri, media mempunyai tujuan khusus mengandung satu atau lebih senyawa kimia bagi spesifikasi fungsionalnya. Berikut media pertumbuhan berdasarkan fungsinya menurut Capuccino (2013) :

1) Media Selektif

Media selektif mengisolasi kelompok bakteri spesifik dan menghambat pertumbuhan bakteri lainnya. Contoh media selektif, yaitu agar feniletanol, agar Kristal violet, agar NaCl 75%.

2) Media Diferensial

Media selektif dapat membedakan kelompok bakteri yang berkaitan secara morfologis dan biokimia. Media ini dapat menghasilkan perubahan karakteristik pada pertumbuhan bakteri dan/atau media di sekeliling koloni. Contoh media diferensial, yaitu agar garam mannitol, agar MacConkey, agar Eosin-Metilen Biru (Levine).

3) Media Diperkaya

Media ini telah ditambahkan dengan bahan-bahan bernutrisi tinggi, seperti darah, serum, atau ekstrak khamir, untuk tujuan kultivasi organisme selektif. Contoh dari media diperkaya yaitu, agar darah.

Selain itu terdapat juga macam macam media yang dibedakan berdasarkan bentuknya, yaitu :

1) Media Cair

Media cair tidak ditambahkan dengan komponen pematat seperti Agar. Wujud media ini selalu cair walaupun dalam suhu kamar. Media cair digunakan untuk memperbanyak bakteri, kemampuan fermentasi, dan perlakuan berbagai macam uji (Boleng, 2015). Media cair untuk memperbanyak bakteri contohnya Nutrient broth (NB), Media cair untuk melihat kemampuan fermentasi bakteri contohnya media gula-gula seperti glukosa, laktosa, maltosa, manitol, sukrosa.

2) Media Semi padat

Media setengah padat (media semi-solid) merupakan media yang dibuat dengan menambahkan agar hanya setengah atau kurang dari jumlah yang seharusnya. Tingkat konsistensi media ini lebih rendah jika dibandingkan dengan media padat (media solid). Media setengah padat digunakan untuk : menguji ada tidaknya motilitas (pergerakan) sel bakteri dan menguji kemampuan bakteri memecah triptofan, dan kemampuan menghasilkan sulfur, contohnya media Sulfur Indole Motility (SIM) (Pujiati, 2019).

3) Media Padat

Media padat (media solid) merupakan media yang berbentuk padat dengan penambahan agar sebagai pematat. Media padat dapat dituang dalam cawan petri sehingga berbentuk lempeng atau berbentuk agar miring dalam tabung. Media padat umumnya dipergunakan untuk menghitung jumlah koloni yang tumbuh seperti pada media Nutrien Agar Plate (NAP) dan Plate Count Agar (PCA), untuk mempelajari perbedaan koloni bakteri Eosin Methylen Blue Agar (EMB) dan Manitol Salt Agar (MSA). Media padat dipergunakan juga untuk mengasihkan kuman untuk memperoleh biakan murni seperti Media Thiosulfate Citrate Bile Salts Agar (TCBS) (Boleng, 2015). Media padat untuk tes biokimia contohnya media Simmon Citrat untuk melihat kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, media Urea untuk melihat kemampuan bakteri menguraikan urea menjadi amoniak, media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) untuk melihat kemampuan fermentasi bakteri dan pembentukan sulfur (Pujiati, 2019).

2.3.3 Media Nutrient Broth

Untuk menghasilkan pertumbuhan yang optimal, diperlukan media (nutrient) yang optimal pula. Media Nutreint Broth merupakan salah satu media yang umum digunakan. NB diformulasikan dengan sumber karbon dan nitrogen supaya dapat

memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri. Komposisi NB terdiri dari *beef extract* sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber nitrogen. (Pierce, et al, 2005). Media Nutrien broth (NB) merupakan contoh dari medium kompleks yang merupakan salah satu medium yang dipakai sebagai tempat perkembangbiakan bakteri. Medium ini dapat digunakan untuk perbanyakan (propagasi) mikroorganisme dalam jumlah besar, uji fermentasi, dan berbagai uji lain. (Rakhmawati, 2012)

Media Nutrient Broth yang digunakan adalah Media Nutrient Broth Himedia, mengikuti standar spesifikasi analisis pabrik (CoA). Dengan media Nutrient Broth yang digunakan terdiri dari pepton, sodium klorida (NaCl), HM peptone B (setara dengan *beef extract*), dan ekstrak ragi. Memiliki nilai pH $7,4 \pm 0,2$ pada suhu 25°C , dan konsentrasi media 13 g/ liter. Dapat dengan baik menumbuhkan bakteri *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Salmonella Typhi* ATCC, *Staphylococcus aureus aubsp.aureus* ATCC, dan *Streptococcus pyogenes* ATCC.

2.4 Nilai pH

Terdapat beberapa factor penting dalam pertumbuhan bakteri diantaranya suhu, oksigen, dan nilai pH. Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor penting dalam pertumbuhan bakteri. Hal ini mempengaruhi tinggi rendahnya densitas bakteri yang dihasilkan. Nilai pH minimum dan maksimum untuk pertumbuhan bakteri pada umumnya yaitu 4-9, namun pH yang paling optimal berkisar antara 6,5-7,5. pH sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri karena berkaitan dengan aktivitas enzim yang dibutuhkan oleh bakteri untuk mengkatalis reaksi- reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal maka akan mengganggu kerja enzim-enzim tersebut dan akhirnya mengganggu pertumbuhan bakteri itu sendiri (Suriani dkk, 2013).

Derajat keasaman media pembenihan juga mempengaruhi pertumbuhan kuman dalam membantu metabolisme bakteri. Bakteri tumbuh subur pada kisaran pH 6,5 – 7,5 (Murray dkk, 2009). Pengukuran pH bergantung pada suhu dan dilakukan paling baik saat suhu 25°C menggunakan instrumen yang sesuai yaitu pH meter (yang mengukur hingga 0,1 unit pH). Alat untuk mengecek pH harus dikalibrasi sebelum digunakan menggunakan larutan buffer standar. Nilai pH media pertumbuhan bakteri yang disiapkan di laboratorium harus diperiksa dan disesuaikan karena perubahan pH dapat terjadi selama sterilisasi (Baird, Hodges, dan Denyer; 2005).

2.5 Sterilisasi

Sterilisasi adalah proses secara kimia atau fisika yang digunakan untuk membunuh semua bentuk kehidupan mikroorganisme dan menghilangkan pencemaran oleh jasad renik baik hidup ataupun mati. Tujuan utama pengendalian mikroorganisme antara lain mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme yang sering sebagai bakteri kontaminan, mencegah pembusukan dan perusakan bahan oleh mikroorganisme (Boleng, 2015). Metode sterilisasi dibagi menjadi dua, yaitu metode fisik dan metode kimia. Metode sterilisasi kimia dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia. Sedangkan metode sterilisasi fisik dapat dilakukan dengan cara panas, radiasi dan filtrasi.

2.5.1 Metode sterilisasi kimia

Metode sterilisasi kimia dilakukan untuk bahan-bahan yang akan rusak bila disterilkan pada suhu tinggi (misalnya bahan-bahan dari plastik). Kekuatan agen anti mikroba kimiawi diklasifikasikan atas dasar efisiensinya dalam membunuh mikroorganisme. Seluruh gremisida diklasifikasikan sebagai kategori tingkat tinggi karena efektif untuk seluruh bentuk kehidupan mikroba (Pratiwi, 2008). Metode sterilisasi kimia dapat dilakukan dengan menggunakan gas (dengan cara fumigasi atau pengasapan). Beberapa bahan kimia yang dapat digunakan untuk sterilisasi gas adalah etilen oksida, gas formaldehid, asam parasetat dan glutaraldehid alkalin. Sterilisasi kimia juga dapat dilakukan dengan penggunaan cairan desinfektan berupa senyawa aldehid, hipoklorit, fenolik dan alkohol (Pratiwi, 2008).

2.5.2 Metode sterilisasi fisika

1) Sterilisasi panas

Metode sterilisasi ini digunakan untuk bahan yang tahan panas. Metode sterilisasi panas tanpa kelembaban disebut metode sterilisasi kering. Umumnya untuk bahan yang sensitif terhadap kelembaban digunakan metode sterilisasi panas kering pada temperatur 160-180°C, sedangkan untuk bahan yang resisten kelembaban digunakan metode sterilisasi basah pada temperature 115-134°C. Macam-macam sterilisasi dengan pemanasan antara lain:

- a) Pemanasan dengan nyala api
- b) Pemanasan dengan udara panas (*Dry Heat Oven*)
- c) Merendam dalam air mendidih
- d) Sterilisasi dengan uap air (menggunakan Autoclave)

- e) Pemanasan dengan uap air yang mengalir
 - f) Sterilisasi benda-benda yang tidak tahan suhu tinggi (Pasteurisasi, tindalisasi)
- 2) Sterilisasi dengan penyaringan (filtrasi)

Sterilisasi dengan penyaringan digunakan untuk bahan yang sensitif terhadap panas misalnya enzim. Proses ini menggunakan membran filter yang terbuat dari selulosa asetat. Jenis filter yang biasa digunakan pada metode ini adalah filter HEPA (*High Eficiency Partikulat Air*). Kerugian pada metode ini adalah harga yang mahal, filter yang mudah mampat dan tidak dapat digunakan untuk menyaring virus (Pratiwi, 2008).

- 3) Sterilisasi dengan pengeringan

Pengeringan akan menyebabkan larutan disekeliling mikroba menjadi hipertonis, sehingga air keluar dari sel mikroba dan mikroba mati. Gangguan tekanan osmotik ini akan lebih bagus bila ditambahkan garam dan bumbu-bumbu seperti halnya pada pembuatan ikan asin. Cara ini bukanlah Tindakan sterilisasi, melainkan pengawetan. Karena dengan pengeringan ini hanya menyebabkan berhentinya pertumbuhan dan perkembangan biakan mikroba (Kuswiyanto, 2015)

- 4) Sterilisasi dengan pendinginan

Suhu terlalu rendah menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan biakan mikroba terhenti. Cara ini dipakai untuk mengawetkan bahan makanan yang mudah membusuk. Pada suhu -20°C mikroba tidak bisa merombak makanan sehingga tidak terjadi pembusukan (Kuswiyanto, 2015).

- 5) Sterilisasi dengan radiasi

Metode sterilisasi dengan radiasi dengan menggunakan sinar ultraviolet (UV) ataupun dengan metode ionisasi. Sinar UV ini bereaksi dengan asam nukleat sel mikroorganisme dan menyebabkan ikatan antar molekul timin yang bersebelahan dan menyebabkan terbentuknya dimer timin. Dimer timin menyebabkan gagalnya replikasi DNA. Penggunaan sterilisasi dengan sinar UV untuk sterilisasi cabinet dan ruangan (Pratiwi, 2008)