

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Media

Media merupakan suatu tempat untuk ketahanan dan kesinambungan pertumbuhan mikroorganisme yang bergantung pada persediaan nutrisi yang mencukupi dan lingkungan pertumbuhan yang baik. Pertahanan dan pertumbuhan sebagian besar mikroba memerlukan bahan molekul yang dapat larut hasil dari degradasi nutrien kompleks secara enzimatik.

Semua media biakan pada dasarnya berbentuk cair, semipadat, atau padat. Media cair yang tidak mengandung senyawa pematat yaitu senyawa yang berfungsi untuk mengubah bentuk media menjadi lebih padat disebut juga dengan media kaldu, media ini jika diberi senyawa pematat (agar) akan menghasilkan media semi padat atau padat. (James, Capucino, dan Sherman Natalie 2014)

Media berfungsi untuk mengisolasi, menumbuhkan mikroorganisme, memperbanyak jumlah, menguji sifat-sifat fisiologis, dan menghitung jumlah mikroba. Media dibagi menjadi dua jenis berdasarkan komponen dasar yang membentuknya.

1. Media Komplek

Media ini dari bahan alami, komposisi media tidak diketahui secara pasti. Komponen media kompleks ini terdiri hasil uraian atau ekstrak dari berbagai jenis jaringan tumbuhan, daging, kasein, dan ragi yang kaya akan polipeptida, asam amino, vitamin dan mineral.

2. Media yang tersusun dari bahan kimia tertentu

Media ini dibuat dari beberapa jenis bahan kimia dengan konsentrasi tertentu. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari sumber karbon (C) seperti, glukosa, dekstrosa, sukrosa. Sumber nitrogen (N) NH_4OH_3 , NH_4Cl , $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$. Sumber Fosfor (P) KH_2PO_4 , vitamin, mineral seperti Fe, Mn, S dan lain-lain.

Media berdasarkan komposisi dapat dibagi menjadi empat, yaitu media umum, media selektif, media diperkaya, dan media diferensial.

1. Media Umum

Media semi sintetik atau alami yang mengandung nutrisi umum untuk mikroorganisme, seperti Nutrient Broth (NB), Nutrien Agar (NA), Potato Dextro Agar (PDA) di gunakan untuk mengkultur jamur atau ragi.

2. Media Selektif

Media sintetik yang ditambahkan zat kimia tertentu. Media sintetik dapat mencegah pertumbuhan kelompok mikroorganisme yang tidak diinginkan tanpa menghambat pertumbuhan mikroorganisme target seperti Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLBB).

3. Media Diperkaya

Media sintetik mengandung komponen - komponen yang berasal dari makhluk hidup.

4. Media diferensial

Media yang mengandung senyawa kimia tertentu yang dapat membedakan sifat mikroorganisme dengan mikroorganisme lain dalam

suatu kultur campuran, karena adanya perbedaan respon terhadap senyawa kimia (Safitri, Ratu., dan Novel S 2010).

2.1.1 Media Nutrien Agar

Nutrien Agar adalah media padat untuk kultur pertumbuhan berbagai mikroorganisme (Safitri dan Novel S. S 2010). Media Nutrien Agar digunakan sebagai media umum untuk budidaya mikroorganisme dan dapat diperkaya dengan darah atau cairan biologis lainnya. Media Nutrien Agar juga berfungsi untuk pemeriksaan kemurnian sebelum pengujian biokimia atau serologis, sangat ideal untuk kelangsungan hidup mikroorganisme yang tumbuh lebih lama pada suhu kamar tanpa risiko pertumbuhan berlebih yang dapat terjadi karena konsentrasi nutrisi substrat berlebih (Himedia 2018).

Tabel 2.1 Komposisi media Nutrien Agar pH 7.0 ± 0.2 at 25°C

Bahan	Ukuran
Agar	20,0 gram
Beef Ekstrak	10 gram
NaCl	5,0 gram
Pepton	10,0 gram

Sumber : (Ronald , M. 2006)

Cara Kerja;

Menambahkan 1,0 Liter air suling kedalam semua bahan media, menghomogenkan dan memanaskan larutan sampai mendidih. Mensterilkan larutan kedalam autoklaf selama 15 menit pada tekanan 15 psi – 121°C . Menuangkan larutan kedalam cawan petri dan biarkan membeku. (Ronald , M. 2006)

Ekstak daging sapi adalah suatu derivat daging sapi, sumber karbon organik, nitrogen organik, vitamin organik dan garam-garam organik. NaCl fisiologis

berfungsi sebagai buffer untuk mempertahankan pH media agar tidak cepat berubah (James, Capucino, dan Sherman Natalie 2014). Garam organik ini juga berfungsi sebagai kation untuk mempertahankan kestabilan struktur protease melalui cara berikatan dengan muatan-muatan negatif dari gugus asam pada permukaan protease (Budiharjo dan Ria 2017)

2.1.2 Pepton

Pepton adalah suatu protein semi cerna, berperan sebagai sumber nitrogen utama (James, Capucino, dan Sherman Natalie 2014). Merupakan hidrolisat protein yang larut dalam air dan tidak menggumpal jika dipanaskan (Saputra dan Nurhayati 2013). Pepton dalam media pertumbuhan mikroba berfungsi sebagai sumber nitrogen bagi mikroorganismenya (Dadik et al. 2016).

2.2 Jangkrik

Jangkrik adalah serangga yang memiliki tubuh rata dan antena panjang. Jangkrik termasuk serangga omnivor yaitu spesies yang memakan tumbuhan dan hewan sebagai sumber makanan pokoknya (Borror, D.J., C.A. Triplehorn 1997).

2.2.1 Klasifikasi Jangkrik

Berdasarkan klasifikasinya jangkrik digolongkan ke dalam:

Kingdom : Animalia
Phylum : Arthropoda
Kelas : Insekta
Ordo : Orthoptera

Subordo : Ensifera
Famili : Gryllidae
Genus : Gryllus

(Widiyaningrum 2008)

Ordo Orthoptera merupakan kumpulan serangga yang bervariasi, dikenal sebagai serangga pemakan tumbuhan dan hama bagi tanaman. Serangga Orthoptera beberapa diantaranya memakan tumbuhan dan hewan sebagai sumber makanan utama (*omnivor*) (Borror, D.J., C.A. Triplehorn 1997).

Jangkrik (*Gryllidae*) adalah spesies serangga yang paling banyak dibudidayakan (Lundy dan Parrella 2015). Di Indonesia ada tiga jenis jangkrik yang dibudidayakan yaitu *Gryllus testaceus*, *Gryllus miratus* dan *Gryllus bimaculatus*. Tiga jenis spesies jangkrik ini telah dilakukan pengamatan sebagai berikut;

1. Spesies *Gryllus bimaculatus*

Masyarakat lebih mengenal dengan nama jangkrik *kalung* atau *jliteng*. Spesies ini memiliki kulit tubuh yang lebih lunak. Laju pertumbuhan *Gryllus bimaculatus* relatif lebih cepat dibandingkan spesies lain. Umumnya kulit tubuh dan sayap luar berwarna hitam legam atau agak kemerah-merahan, bagian punggung (pangkal sayap luar) terdapat garis tebal kuning sehingga menyerupai kalung. Sifat jangkrik ini tenang namun agresif dan suka berkelahi sehingga dikenal juga sebagai jangkrik aduan.

2. Spesies *Gryllus miratus*

Jangkrik *Gryllus miratus*, masyarakat lebih mengenal dengan nama jangkrik bering atau jangkrik kliring. Mempunyai tubuh kecil dan ramping, lebih

kecil dari *Gryllus miratus*. Kulit tubuh sedikit kasar dan kering, warna tubuh dan sayap coklat muda polos, pada bagian kepala terdapat garis warna kuning membentuk huruf V. Lebih mudah terkejut dan lebih suka bersembunyi di tempat yang gelap.

3. Spesies *Gryllus testaceus*

Jangkrik *Gryllus testaceus* masyarakat mengenal dengan nama jangkrik gawang. Pertumbuhannya lebih lambat di bandingkan dengan *Gryllus bimaculatus* dan *Gryllus miratus*, ketika dewasa jangkrik ini berukuran paling besar diantara yang lain. Kulit tubuh agak kasar, warna tubuh dan sayap coklat tua polos, bagian sayap luar terdapat garis dengan warna lebih muda. Daerah kepala berwarna coklat polos mengkilat sifatnya mudah terkejut dan suka melompat kesegala arah (Widiyaningrum 2008).

2.2.2 Metamorfosis Jangkrik

Jangkrik tergolong serangga yang mengalami metamorfosis tidak sempurna karena tidak mengalami tahapan larva dan pupa. Kehidupan dimulai dari fase telur kemudian menetas menjadi nimpha, melewati beberapa kali stadium instar terlebih dahulu sebelum menjadi imago atau serangga dewasa yang ditandai dengan terbentuknya dua pasang sayap. (Widiyaningrum 2008)

2.2.3 Pemanfaatan Jangkrik

Jangkrik (*Gryllidae*) adalah salah satu jenis satwa dari kelompok insekta yang berpotensi untuk dibudidayakan sebagai sumber protein alternatif. Di indoneisa, serangga ini biasa diperjual belikan dalam bentuk hidup sebagai pakan

satwa piaraan khususnya aneka burung berkicau dan beberapa jenis ikan hias (Widiyaningrum,2001). Jangkri dapat menjadi sumber protein hewani alternatif terbaik karena ketersediaannya di alam cukup banyak dan dapat dibudidayakan dengan biaya lebih murah, baik secara ekonomi maupun lingkungan. (Payne et al. 2015).

2.2.4 Nutrisi Jangkrik

Jangkrik berpotensi sebagai sumber protein hewan alternatif dari serangga dengan beberapa komposisi protein dan asam amino. Berikut kandungan nutrisi jangkrik (*Gryllus* sp).

Tabel 2.2: Nutrisi beberapa serangga yang dapat dimakan dalam 100 gram berat kering

Spesies	Stadium	Protein %	Lemak %	Karbohidrat %	Abu %	Energi %
<i>Valnaga Nigricornis</i>	Imago	76.69	6.90	9.62	2.80	407.34
<i>Nomadacris succincta</i> L.	Imago	65.42	10.91	15.48	3.26	421.79
<i>Gryllus</i> sp	Imago/ Nimpa	32.59	29.16	30.76	4.25	515.84
<i>Bombyx mori</i>	Pupa	60.03	29.47	0.92	5.79	509.03
<i>Zophobas morio</i> F.	Larva	49.96	28.97	14.21	3.41	517.50
<i>Tenebrio molitor</i> L.	Larva	38.30	26.72	26.25	4.10	498.68

Sumber : (Adalina dan Maharani 2018)

Setiap spesies serangga memiliki beragam kandungan nutrisi, setiap 100 g berat kering mengandung 32,59-76,69% protein, lemak 6,9-29,47%, karbohidrat 0,92-30,76%, abu 2,80-5,79%, energi 407,34-517,5 kkal, dan mineral Ca dan Fe sekitar 24,82-31,22 mg dan 3,15-4,1 mg, (Rumpold dan Schlüter 2013) menunjukkan serangga sangat layak untuk dimanfaatkan

Tabel 2.3: Hasil analisis proksimat dan asam amino tiga spesies jangkrik lokal pada fase instar

Unsur	Kosentrasi %					
	PB + S			PB + P		
	<i>Gryllus bimaculatus</i>	<i>Gryllus miratus</i>	<i>Gryllus testaceus</i>	<i>Gryllus Bimaculatus</i>	<i>Gryllus miratus</i>	<i>Gryllus testaceus</i>
Bahan Kering	90,56	89,96	89,35	90,67	89,54	89,96
Protein	38,88	40,97	38,35	39,55	41,48	38,09
Serat Kasar	21,61	21,97	22,76	22,09	21,89	22,31
lemak	21,91	20,055,	21,04	22,56	19,90	21,49
Abu	4,92	19	6,0	5,09	5,30	6,39
Asam Amino (mg/g bahan)						
Ala	0,39	0,11	0,07	0,01	0,11	0,05
Arg	0,21	0,38	0,4	0,31	0,4	0,28
Asp	3,94	3,42	4,24	3,89	5,52	4,49
Glu	3,35	3,46	3,4	3,38	3,39	3,30
Gly	1,01	1,12	1,54	1,06	1,09	1,45
His	1,38	1,07	1,04	1,24	1,04	1,44
Ile	0,06	0,16	0,19	0,05	0,14	0,20
Leu	8,38	3,91	3,36	8,86	3,91	3,34
Lys	0,11	0,13	0,37	0,11	0,09	0,34
Met	0,13	0,14	0,21	0,12	0,11	0,19
Phe	0,13	0,17	0,09	0,31	0,16	0,97
Pro	7,11	7,01	9,3	7,54	7,10	9,36
Ser	0,99	0,96	1,17	1,02	1,00	1,09
Cys	0,06	0,15	0,18	0,03	0,14	0,26
Thr	8,75	6,96	1,17	8,63	6,94	1,18
Try	0,22	0,17	0,3	0,02	0,18	0,31
Val	0,12	0,11	0,17	0,12	0,12	0,16

Tabel 2.3: Lanjutan

Sumber : (Widiyaningrum 2008)

Keterangan : PB + S = Pakan Buatan + Sawi

PB + P = Pakan Buatan + Daun Pepaya

Tabel 2.4: Hasil analisis proksimat dan asam amino tiga spesies jangkrik lokal pada fase imago

	Kosentrasi %					
	PB + S			PB + P		
	<i>Gryllus bimaculatus</i>	<i>Gryllus miratus</i>	<i>Gryllus testaceus</i>	<i>Gryllus Bimaculatus</i>	<i>Gryllus miratus</i>	<i>Gryllus testaceus</i>
Bahan Kering	99,97	90,13	91,12	91,11	90,49	90,89

Lanjutan : Tabel 2.4

	Kosentrasi %					
	PB + S			PB + P		
	<i>Gryllus bimaculatus</i>	<i>Gryllus miratus</i>	<i>Gryllus testaceus</i>	<i>Gryllus bimaculatus</i>	<i>Gryllus miratus</i>	<i>Gryllus testaceus</i>
Protein Kasar	56,56	59,30	58,15	55,48	59,91	57,93
Serat Kasar	14,04	13,42	14,32	14,37	13,06	14,42
Lemak	7,71	7,35	6,97	7,05	7,85	7,04
Abu	6,32	6,02	6,23	6,09	6,26	6,05
Asam Amino (mg/g bahan)						
Ala	1,94	3,63	2,03	2,06	3,02	2,28
Arg	7,75	5,01	8,27	5,93	5,27	5,37
Asp	32,60	26,97	31,19	31,79	29,06	10,77
Glu	28,30	28,84	48,41	23,64	28,05	14,82
Gly	-	-	-	-	-	-
His	4,81	6,99	4,37	5,07	6,77	4,64
Ile	-	-	-	-	-	-
Leu	1,50	1,29	1,55	1,90	1,18	1,64
Lys	5,73	6,21	6,04	7,85	6,17	6,23
Met	8,1	1,21	1,0	1,47	7,59	7,36
Phe	-	-	-	-	-	-
Pro	2,1	0,62	2,11	0,38	1,49	1,94
Ser	3,68	3,11	5,15	3,05	8,19	7,58
Cys	7,78	8,35	7,08	7,01	8,19	3,58
Thr	-	-	-	-	-	-
Try	7,13	5,21	2,9	5,31	5,06	3,76
Val	3,09	1,74	2,78	7,25	3,84	2,59

Sumber: (Widiyaningrum 2008)

Keterangan : PB + S = Pakan Buatan + Sawi

PB + P = Pakan Buatan + Daun Pepaya

Tabel 2.5 Hasil Analisa prokimat Jangkrik *Gryllus miratus* dewasa tangkapan dari alam

Komponen	Hasil Analisis (%)
Bahan Kering	89,99
- Protein Kasar	68,21
- Serat Kasar	11,42
- Lemak Kasar	0,22
- Abu	5,11
- Ca	0,31
- P	0,9
- NaCl	0,74
- Energi brutto (kal/gram)	5349

Sumber: (Widiyaningrum 2008)

2.3 Mikroorganisme

Mikroorganisme adalah kelompok dari beberapa kelas makhluk hidup yang berbeda, digolongkan menjadi tiga berdasarkan perbedaan organisme seluler dan biokimia yaitu hewan tumbuhan dan protista. Protista dibagi menjadi dua yaitu prokariotik dan eukariotik. Bakteri, algae biru dan algae hijau termasuk prokariotik sedangkan algae jenis lain, jamur dan protozoa termasuk dalam eukariotik (Ananthanarayan 2006).

2.3.1 Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme prokariotik yang tidak memiliki klorofil dan bersel tunggal (uniselular). Ukuran diameter bakteri sekitar 0.2 -1,5 μm dan panjang 3-5 μm . Bakteri dapat dibedakan menjadi beberapa jenis berdasarkan bentuknya.

1. Kokus, sel bakteri berbentuk bulat atau oval
2. Basil, sel bakteri berbentuk batang
3. Vibrio, sel bakteri berbentuk koma atau batang melengkung
4. Sipral, Sel bakteri berbentuk spiral yang kaku

Bakteri tidak dapat dilihat langsung di mikroskop, membutuhkan teknik pewarnaan sehingga dapat dilihat. Bakteri dapat dibedakan menjadi dua berdasarkan pewarnaan gram stain, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

Bakteri gram positif adalah bakteri yang resisten terhadap dekolonisasi dan mempertahankan pewarnaan ungu sedangkan gram negatif menghilangkan warna perlarut organik dan mempertahankan warna merah. Bakteri gram positif

memiliki protoplasma yang lebih asam sifat ini dapat mempertahankan pewarnaan dasar yang lebih kuat daripada bakteri gram negatif. Gram positif dapat menjadi bakteri gram negatif jika mengalami kerusakan sel.

Prosedur pewarnaan gram stain digunakan untuk mempelajari identifikasi dan morfologi bakteri. Reaktivitas pewarnaan gram sangat penting dilakukan, karena bakteri gram positif dan gram negatif tidak hanya berbeda dalam karakteristik pewarnaan dan struktur tetapi juga berbeda sifat lain seperti persyaratan pertumbuhan, kerentanan terhadap antibiotik dan patogenitas (Ananthanarayan 2006).

2.3.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Nama '*Staphylococcus*' berasal dari bahasa Yunani, yang berarti sekelompok anggur (*staphyle*) dan berry (*kokkos*). Diameter sel berkisar 0,5-1,0 μm , organisme anaerob aerob dan fakultatif yang membentuk koloni kuning atau putih yang cukup besar pada media agar yang kaya nutrisi.

Staphylococcus aureus termasuk golongan bakteri Gram Positif, berbentuk bulat dan sering berkelompok menyerupai anggur ketika diamati dibawah mikroskop cahaya setelah diberi pewarnaan Gram. Bakteri ini menyebabkan berbagai penyakit menular seperti infeksi kulit, bakteremia, endokarditis, pneumonia, dan keracunan makanan (Enany, Laura, dan & Alexander 2017). Bakteri ini merupakan salah satu bakteri patogen yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasive dan ketahanan terhadap antibiotik (Herlina et al. 2015).

Staphylococcus aureus tumbuh dengan mudah pada banyak jenis media dan aktif secara metabolisme, memfermentasi karbohidrat dan memproduksi pigmen

yang bervariasi dari putih menjadi kuning tua. Stafilococcus yang bersifat patogen dapat melakukan hemolisis darah, membekukan plasma, dan menghasilkan berbagai enzim dan toksin ekstraseluler. Stafilococcus mengandung polisakarida dan protein antigenik serta zat lain yang penting dalam struktur dinding sel. Pertumbuhan paling cepat pada suhu 37 ° C, dan membentuk pigmen baik pada suhu (20-25 ° C). Koloni yang tumbuh pada media padat berbentuk bulat, halus, terangkat, dan berkilau biasanya membentuk koloni abu-abu hingga kuning keemasan.

Karakteristik pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase, yang membedakannya dari Streptokokus. Koagulase ekstraselular yaitu suatu protein mirip enzim yang dapat membekukan plasma beroksalat atau bersitrat di hasilkan oleh bakteri ini. Bakteri ini memfermentasi banyak karbohidrat, menghasilkan asam laktat, tahan terhadap pengeringan, panas (tahan 50 ° C selama 30 menit), dan 9% Natrium Klorida tetapi mudah dihambat oleh bahan kimia tertentu (Richardson dan Smaill 2013). Enzim katalase atau periksodase sangat berperan dalam kelangsungan hidup mikroba. Uji ini bersifat positif pada *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya gelembung gas pada tabung

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium, warna tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Perbedaan struktur luar dinding sel bakteri gram positif dan negatif mengakibatkan terjadinya perbedaan warna pada akhir prosedur pewarnaan gram. Dinding sel terluar bakteri gram positif terdiri dari peptodoglikan tebal tanpa lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida (Karimela et al. 2017).

2.3.3 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri berbentuk batang, berisifat motil, gram negatif dan berukuran $0,6 \times 2 \mu m$. Bentuk sel bakteri tunggal, berpasangan, dan terkadang beranti pendek. Kebutuhan akan oksigen bersifat aerob obligat yang siap tumbuh pada berbagai medium biakan, terkadang menghasilkan aroma yang manis atau berbau seperti anggur atau tauco jagung, beberapa koloni berbentuk bulat licin dengan fluorensen berwarna hijau (pioverdin). Pewarnaan gram menunjukkan bakteri gram negatif. *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi laktosa dan mudah di bedakan dari bakteri yang memfermentasi laktosa. (Jawetz., Melnick., dan Adelberg 2018).

Bakteri *Pseudomonas sp* menghasilkan satu atau lebih pigmen yang dihasilkan oleh asam amino aromatik seperti tirosin dan fenilalanin. Beberapa pigmen tersebut antara lain adalah piosanin (pigmen berwarna biru), pioverdin (pigmen berwarna kuning), piorubin (pigmen berwarna merah), dan piomelanin (pigmen berwarna coklat). Tidak semua koloni *Pseudomonas* berpigmen, pada umumnya koloni pigmen berwarna krem dan kuning (Al-mohanna 2017).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan eksotosin A menyebabkan nekrosis jaringan, toksin dapat menghambat sintesis protein melalui mekanisme kerja. Empat toksin sekresi tipe III yang dapat dihasilkan *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan kematian sel dan mengganggu sistem imun pejamu terhadap infeksi. Eksoenzim S dan eksoenzim T adalah enzim bifungsional dengan aktifitas GTPase dan ADP-ribosil transferase. Ekoenzim U adalah suatu fosfolipase dan ekoenzim Y adalah suatu adenilil siklase (Jawetz., Melnick., dan Adelberg 2018).

2.4 Kebutuhan Nutrisi Bakteri

Media pertumbuhan adalah tempat untuk menumbuhkan mikroba. Mikroba memerlukan nutrisi untuk memenuhi kebutuhan hidupnya sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya, meliputi:

1. Karbon

Karbon merupakan kebutuhan yang paling penting dan atom pusat yang umum untuk semua struktur dan fungsi selular. Dua jenis mikroba yang tergantung pada unsur karbon yaitu organisme autotrof dan organisme heterotrof.

2. Nitrogen

Merupakan atom yang penting untuk banyak makro molekul selular, terutama protein dan asam nukleat. Protein berperan sebagai molekul struktural membentuk sesuatu yang disebut bahan sel dan berfungsi sebagai molekul fungsional, enzim yang bertanggung jawab atas aktifitas metabolik. DNA dan RNA berperan aktif dalam sintesis protein.

3. Unsur Non Logam

Ion-ion logam utama yang digunakan untuk nutrisi selular yaitu sulfur dan fosfor.

4. Unsur Non Logam

Merupakan ion logam yang dibutuhkan untuk kelangsungan kinerja berbagai proses aktivitas selular secara efisien seperti osmoregulasi, pengaturan aktifitas enzim dan transpor elektron selama oksidasi hayati. Unsur logam dapat ditemukan didalam garam organik.

5. Air

Berfungsi untuk melarutkan nutrisi berbobot molekul rendah agar dapat melintasi membran sel.

6. Energi

Berfungsi untuk mengaktifkan transpor aktif, biosintesis dan biodegradasi makromolekul metabolik selular. Dua tipe bioenergetik mikroorganisme yaitu mikroorganisme fototrof dan mikroorganisme kemotrof (James, Capucino, dan Sherman Natalie 2014).

2.5 Faktor Fisik Pertumbuhan Bakteri

Tiga faktor fisik yang paling mempengaruhi pertumbuhan kehidupan sel-sel adalah suhu, pH dan gas lingkungan.

1. Suhu

Mempengaruhi laju reaksi kimia melalui kerja enzim selular. Suhu rendah memperlambat dan menghambat aktivitas enzim sehingga menghambat atau memperlambat metabolisme sel. Akibat terganggunya metabolisme sel pertumbuhan dapat terhambat. Suhu yang tinggi mengakibatkan koagulasi sehingga mendenaturasi enzim yang termolabil. Meskipun enzim-enzim memiliki derajat sensitivitas panas yang berbeda, suhu sekitar 70°C akan merusak enzim yang paling esensial dan menyebabkan kematian sel.

2. Konsentrasi ion Hidrogen (pH) Lingkungan Ekstraselular

pH optimum untuk metabolisme sel biasanya berada pada kisaran netral yaitu pH 7. Peningkatan konsentrasi ion hidrogen menyebabkan pH asam (dibawah 7) dan penurunan konsentrasi ion hidrogen menyebabkan pH

menjadi basa (diatas 7) akan mengganggu aktivitas sel. Peningkatan dan penurunan pH akan memperlambat laju reaksi kimia karena akan terjadi perusakan enzim selular sehingga mempengaruhi laju pertumbuhan dan kehidupan sel.

3. Kebutuhan Oksigen

Sebagian besar sel adalah oksigen atmosferik yang dibutuhkan untuk biooksidatif respirasi. Oksigen atmosferik memegang peranan penting dalam pembentukan ATP dan ketersediaan energi dalam bentuk yang dapat digunakan untuk aktivitas – aktivitas sel. Jenis sel tertentu tidak memiliki sistem enzim untuk respirasi dengan menggunakan oksigen sehingga harus menggunakan bentuk respirasi anaerob atau fermentasi (James, Capucino, dan Sherman Natalie 2014).

2.6 Teknik Pengenceran Bertingkat

Metode pengenceran adalah suatu metode yang digunakan untuk memperoleh jumlah perhitungan mikroorganisme yang benar. Standar turbidimetri untuk inokulasi suspense bakteri menggunakan larutan BaSO₄ diukur dengan menggunakan panjang gelombang setara dengan skala 0,2 *McFarland*(Robinson 2012). Metode perhitugan cawan (TPC) dilakukan dengan membuat pengenceran bertingkat. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Dasar pengenceran yaitu dengan cara menetapkan seri pengenceran kelipatan 10, masing-masing pengenceran diambil 1 cc suspense bakteri. Tujuan pengenceran untuk membentuk suatu kosentrasi suspensi bakteri, memperkecil atau

mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan (Nurtjahyani dan Shyntya 2014). Kerapatan pertumbuhan bakteri harus dipertimbangkan pada metode cawan, jika pertumbuhan terlalu rapat hasilnya akan sulit dipertanggungjawabkan demikian juga untuk pertumbuhan yang terlalu jarang. Perhitungan pertumbuhan koloni yang paling layak biasanya diambil dari cawan petri yang pertumbuhan koloninya sekitar 30-300 koloni percawan, satuan perhitungan koloni CFU (*colony forming unit*) (Harmita dan Radji 2008).

2.7 Teknik Isolasi Bakteri

Teknik Isolasi Mikroba merupakan lanjutan dari pengenceran bertingkat. Pengambilan suspensi dapat diambil dari pengenceran mana saja tapi biasanya untuk tujuan (mendapatkan koloni tunggal) diambil dari tabung pengenceran yang diperkirakan pertumbuhan koloni sekitar 30-300 percawan. (Yunita, Hendrawan, dan Yulianingsih 2015)

2.8 Metode Hitung Cawan

Isolasi bakteri merupakan suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungannya, sehingga diperoleh kultur murni (Madigan et al. 2012). Metode hitungan cawan digunakan untuk menumbuhkan sel-sel mikroba yang masih hidup pada satu atau beberapa media sehingga sel tersebut berkembangbiak dan membentuk koloni-koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata telanjang tanpa menggunakan mikroskop sehingga koloni dapat dihitung menggunakan *colony counter*. Perhitungan sel bakteri pada cawan dapat digunakan satuan CFU/ml atau mg. CFU singkatan dari *Colony Forming Unit*

yaitu unit-unit atau satuan pembentuk koloni. (Yunita, Hendrawan, dan Yulianingsih 2015). Metode untuk memperoleh isolat dari biakan murni sebagai berikut;

1. Metode tuang (*Pour plate*) yaitu teknik isolasi bakteri dengan cara mengambil 1ml biakan dituang kedalam cawan petri kemudian dituangkan media biakan yang bersuhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$
2. Metode sebar (*Spread plate*), yaitu teknik isolasi bakteri dengan cara mengambil 0,1ml dikultur pada permukaan media dengan metode sebar.
3. Metode gores (*Streak*), yaitu teknik isolasi bakteri dengan cara kultur dipermukaan media dengan metode gores menggunakan ose steril (Madigan et al. 2012).