

**BUKTI KINERJA
PUBLIKASI ILMIAH
TAHUN 2023**



NAMA: FATHIN HAMIDA, S.SI., M.SI

NIDN: 0326118605

Design of HIV-1 Peptide-Based Vaccine from Matrix Protein p17: Immunoinformatics Approach

Rosario Trijuliamos Manalu^{1*}, Meilisa Rahmasari², Fathin Hamida³
Department of Pharmacy National Institute of Science and Technology
Corresponding Author: Meilisa Rahmasari meilisarahmasari63915@gmail.com

ARTICLE INFO

Key Word: Epitope, HIV, Immunoinformatics, Vaccine Design.

Received : 05, March

Revised : 10, April

Accepted: 15, May

©2023 Manalu, Rahmasari, Hamida:
This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Atribusi 4.0 Internasional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



ABSTRAK

HIV/AIDS infection is a spectrum of infectious diseases of the immune system. Rapid transmission causes difficulty in overcoming this disease. This studied aims to determine potential peptides as vaccine candidates, and to determine the physicochemical properties and homologous properties of vaccine candidates. This studied used a processing method with an immunoinformatics approached and used samples from the p17 matrix protein sequence with PDB code 2HMX. All stages were carried out used the appropriate web server and application. From sequence analysis, selected T-cell and B-cell epitopes was obtained. After designing the vaccine candidate from T-cell and B-cell epitopes, the final stepped was to perform 2D and 3D visualization of the vaccine candidate. The researched shows that the peptide were as follows, adjuvant-EAAAK-GSEELRSLY-AAY-NNSQV SQNY-GPG PG-TGSEELRSLYNTIAV-KK-QPSLQTGSEELRS -KK-DVKDTKEALDK. The physicochemical properties of the HIV vaccine candidate had a total of 116 amino acids, a molecular weight of 12871.66 g/mol, a theoretical pI of 9.58, a number of negative residues 13, a number of positively charged residues 24, the extinction coefficient was 7825 m²/mol, the stability index was 59, 77, aliphatic index 64.74, average hydrophobicity -0.958. The results of the homologous analysis of the matrix protein p17 vaccine candidate stated that the amino acid residues that made up the peptide were not homologous or did not caused an autoimmune response when used as a vaccine candidate.

INTRODUCTION

The Human Immunodeficiency Virus (HIV) is a ribonucleic acid (RNA) virus that belongs to the retrovirus lentivirus genus. The virus enters the host's body and affects CD4 T lymphocyte cells in regulating and maintaining the immune system. This process causes continuous replication that eventually lyses lymphocyte cells. HIV remains a major challenge in the health world. Rapid transmission and development pose as one of the difficulties in dealing with the disease. Minimal knowledge amongst the community is one of the supporting factors for HIV to continue increasing every year.

Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is the leading cause of HIV disease, with the end stage being Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). AIDS is a major global public health problem. Antiretroviral therapy (ART) is one therapy that can inhibit HIV replication and improve patient prognosis, converting AIDS into a chronic viral infection. In most individuals, HIV-1 induces immune activity that involves not only the main infection targets (CD4 T lymphocytes and monocytes/macrophages) but also B lymphocytes, natural killer cells, and antigen presenting cells. The direct effect of HIV-1 gene products in triggering chronic immune stimulation is where virus proteins can create an active immunological environment.

Out of many HIV-1 proteins, matrix protein p17 is the target for antibody neutralizers against HIV-1. Matrix protein p17 serves several functions in the virus replication cycle. The function of matrix protein p17 is to recruit surface protein/transmembrane complex gp120/gp41 of the virus into the virus particle. Furthermore, matrix protein p17 functions as a protein that targets Pr55Gag protein to its assembly site on the infected plasma membrane.

This peptide-based vaccine design is a vaccine design composed of several amino acid residues, usually made up of 9-15 residues. Amino acids are the smallest part of a protein, where a protein is the main compound of peptide vaccine candidates. Using a peptide-based vaccine design can help monitor diseases and stimulate disease responses. The principle of this peptide-based vaccine design is based on the immune system's response to the antigen. The HIV vaccine is developed by substituting epitopes from the matrix protein p17. Epitope substitution is expected to provide an immune response to the HIV virus, thus reducing the mortality rate caused by HIV infection.

In this vaccine design research, an immunoinformatics approach is used to predict vaccine candidates from virus proteins. Considering there is still no treatment that can cure HIV/AIDS, as well as in terms of prevention, this research can simplify predicting vaccine candidates. This vaccine design using this method holds the potential to design vaccine candidates that can play an important role in disease diagnosis and management. The immunoinformatics method works by predicting peptide binding with MHC. The immunoinformatics method significantly reduces time, cost, and labor involved in experimental verification. Therefore, peptide-based vaccine design using computational methods is beneficial for vaccine development in Indonesia, especially for HIV.

This research designs peptides from the matrix protein p17 using appropriate web servers for testing. The characteristics of the produced epitopes are determined from antigenic, allergenic, toxic, and homologous properties. This research aims to find out the potential peptide sequence and position as a vaccine candidate, determine the physicochemical properties of the HIV vaccine candidate, and ascertain the homologous properties of the vaccine candidate. The predicted vaccine candidate results are expected to be useful for vaccine development in Indonesia.

LITERATURE REVIEW

Human Immunodeficiency Virus (HIV)

Human Immunodeficiency Virus (HIV) was a virus that caused Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). AIDS was a collection of symptoms resulting from the weakened immune system due to the entry of HIV virus into a person's body. HIV belonged to the retrovirus group, which was a type of virus that possessed an enzyme (protein) capable of converting its genetic material, RNA, into DNA. This group was called retroviruses because they reversed the normal sequence, transforming DNA into RNA. After infecting a host, HIV's RNA transformed into DNA through the action of the reverse transcriptase enzyme. The DNA was then inserted into human cells' DNA. This DNA could be used to create new viruses that infected new cells or remained dormant within long-lived cells or reservoirs, such as resting CD4 cells. HIV's ability to remain hidden was the reason why the virus persisted throughout a person's lifetime, even with effective treatment.

Structure of HIV

Currently, HIV was classified into two types: HIV type 1 and HIV type 2. Worldwide, the primary agent of AIDS was HIV-1, while HIV-2 was limited to certain regions of West and Central Africa. HIV was a genetically related member of the Lentivirus genus within the Retroviridae family. Lentivirus infections typically exhibited a chronic disease course with a long clinical period. HIV-1 and HIV-2 differed in their genomes, although their basic structures were similar.

Matrix Protein p17

Matrix protein p17 was a 132-amino acid polypeptide that formed the protective shell lining the inner side of the virus's plasma membrane. Matrix protein p17 played a key role in several steps during the virus replication, both in the early and late stages of the virus life cycle. The viral protein was continuously released into the extracellular space from HIV-1-infected cells and could be detected in the plasma of HIV-positive patients and in tissue specimens.

Vaccine

The term 'vaccination' was first used by Edward Jenner in 1796 to describe the injection of the smallpox vaccine. Vaccination involved the administration

of antigenic agents to stimulate an individual's immune system and develop adaptive immunity against a particular disease. Vaccines could improve or even prevent the effects of an infection. Vaccination was generally considered the most effective method for preventing infectious diseases, and its efficacy had been extensively studied and verified. Some vaccines were administered after a patient had been infected by a pathogen. Vaccination administered within the first three days after exposure to smallpox was reported to greatly weaken the disease, and vaccination given up to a week after exposure could provide protection from the disease or reduce its severity.

Immune System

The immune system was a collection of immune cells found in the blood, lymphatic fluid, tissues, and organs that worked together to protect the body against foreign substances such as microbes (bacteria, fungi, and parasites), viruses, cancer cells, and toxins. The immune system was highly complex, capable of recognizing and remembering millions of different foreign substances. Immunity or resistance to infections was acquired from the activities and functions of two closely related systems, namely the innate immune system and the adaptive immune system. The external defenses, such as the skin and mucous membranes, phagocytic leukocytes, and serum proteins, were included in the elements of the innate immune system, which worked non-specifically against foreign substances or cells without the need to recognize specific identities. The adaptive immune system, on the other hand, differed from the innate immune system and relied on specific recognition by lymphocytes of foreign substances or cells.

Antigen

There were two important characteristics of antigens: immunogenicity, the ability to elicit an immune response (either by stimulating the production of specific antibodies, T cell proliferation, or both), and reactivity, the ability of antigens to interact specifically with antibodies or cells. Antigens could encompass whole or parts of microbes, chemical components of bacterial structures, non-microbial chemical components (such as egg whites, pollen, tissues, or organ transplants). Certain small portions of large antigen molecules could trigger an immune response, referred to as epitopes or antigenic determinants.

Epitope was a structure or part that was immunogenic from a protein molecule or antigen. Epitopes could belong to foreign proteins or self-proteins, and they could be categorized as conformational or linear, depending on their structure and integration with paratopes. T cell epitopes were presented on the surface of antigen-presenting cells (APCs), where they bound to major histocompatibility complex (MHC) molecules to induce an immune response. MHC was located on the short arm of chromosome 6, making it the most complex genetic system in the human genome, and it included the HLA genes. Transmembrane HLA proteins encoded by classical HLA genes (A, B, C, DR, DQ, and DP) were primarily involved in antigen presentation on the cell surface, from small pathogen-derived peptide fragments to T cells, triggering

an immune response. Different HLA alleles presented different repertoires of peptide fragments from attacking pathogens, potentially influencing T cell immune responses.

Immunoinformatics

Immunoinformatics or computational immunology was a field that connected computer science and immunology, utilizing computational resources and methods to handle and understand immunological data. Informatics had been incorporated into many immunological topics, ranging from disease prevention and diagnosis to drug discovery. Current applications heavily relied on the interpretation of immunology laboratory reports. Results were obtained using computational methods, but many advancements in the field had already made it possible to be purely data-driven, with in silico discoveries being made using publicly available data.

METHODOLOGY

The tool used in this research was an Acer notebook with an Intel(R) Core(TM) i3-1115G4 CPU @ 3.00GHz (4 CPUs), ~3.0GHz, 4GB RAM, and Windows 10 operating system. This was a computational study that utilized data from an online database. The material used was a sample sequence of the matrix protein p17.

Study Design: Computational study

Study Location: The research was conducted at the private residence on Jalan Nurul Ihsan I, Jagakarsa, South Jakarta, Indonesia.

Study Duration: Oktober 2022 to Januari 2023.

Collection of Matrix Protein p17 Sequencing Data: The virus sequence data was taken from the PDB website: (<https://www.rcsb.org/>). The sequencing data collection aimed to determine the T and B cells to be studied.

Antigen, Allergy, and Toxicity Analysis: The obtained sequence was then subjected to antigen, allergy, and toxicity tests. These tests aimed to select sequences that met the criteria for vaccine development. For the antigen test, it could be performed on the website: (<http://www.ddg-pharmfac.net/vaxijen/VaxiJen/VaxiJen.html>) with target organism: Virus and Threshold: 0.4. Meanwhile, for the allergy test, it was performed on the website: (<https://www.ddgpharmfac.net/AllerTOP/>). The toxicity test was carried out on the website: (<http://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/design.php>).

MHC I Epitope Analysis: Analysis of MHC I epitope was carried out on the website: (<http://iedb.org>) by analyzing the selected non-allergic sequence. By entering the allele code HLA-A01:01 and amino acid length of 9.

MHC II Epitope Analysis: Analysis of MHC II epitope was carried out on the website: (<http://iedb.org>) by entering the selected sequence with DRB101:02 allele code that was an epitope for Asian races with amino acid length of 15, and percentile rank value less than 10.

B Cell Epitope Analysis: B cell epitope analysis was performed on the website: (<http://iedb.org>). B cell analysis was carried out by entering the selected sequence on the IEDB website, with a peptide length of 10-20.

Protein Homolog Analysis: The selected epitopes were subjected to homology testing on the website: (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) to determine the amino acid residues with body surface receptor.

Design With Adjuvant and Linker: The method used to design vaccine candidates was design with adjuvant and linker using adjuvants as a prefix. By entering the formula as follows: Adjuvant-EAAAK-(MHC I)-AAY-(MHC I)-GPGPG-(MHC II)-KK-(B Cell)-KK-(B Cell). The selected adjuvant was based on the literature used.

Validation of Vaccine Candidates:

Physicochemical Analysis of Vaccine Candidates: Physicochemical tests were carried out on the website: (<https://web.expasy.org/protparam/>). This analysis was carried out to determine the physicochemical properties of vaccine candidates.

Prediction of Secondary Structure: The secondary structure prediction aimed to see the protein structure. The analysis was carried out on the website: (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>).

Visualization of 3D Vaccine Candidate: Enter the results of the vaccine candidate design on the website: (<http://galaxy.seoklab.org/>). Visualization is done on the galaxy TBM menu. After obtaining the visualization results on the galaxy TBM, further visualization refinement is carried out on the galaxy refine menu to improve the 3D visualization of the vaccine candidate from the TBM template.

Molecular Docking: Molecular docking was carried out on the Haddock web server on the website: (<https://wenmr.science.uu.nl/haddock2.4/>) using the TLR4 ligand with PDB ID: 4G8A, which was saved in PDB format, and then docked with the visualization results of the vaccine candidate.

Ligplot and Yasara Analysis: The docking results were then analyzed using LigPlot and Yasara applications to see the visualization of the docking results.

RESEARCH RESULT

Collection of Matrix Protein p17 Sequencing Data

The search for sequence data from the matrix protein p17 was conducted on the Protein Data Bank web server. Based on the search results, the sequence of the matrix protein p17 with the PDB code 2HMX was obtained. In selecting and taking the sequence, the criteria were that the sequence had to be antigenic, non-allergic, and non-toxic.

Antigen, Allergy, and Toxicity Analysis

The sequence used for this research was chosen by determining sequences that met the criteria including being antigenic, non-allergenic, and non-toxic in accordance with the regulations, as presented in Table no 1.

Table 1. The antigen, non-allergic, and solubility evaluation of the selected sequences was assessed.

Proteins	Sequence	Antigen	Allergen	Toxic
Matrix Protein p17	HMGARASVLSG	0,5413	Non Allergen	Non Toxic
	GELDKWEKIRL			
	RPGGKKQYKLLK			
	HIVWASRELERF			
	AVNPGLLETSE			
	GCRQILGQLQPS			
	LQTGSEELRSLY			
	NTIAVLYCVHQ			
	RIDVKDTKEAL			
	DKIEEEQNKSK			
KKAQQAAADT				
GNNNSQVSQNY				
<i>Websserver</i>	PDB	VaxiJen V.2.0	AllerTOP V.2.0	Toxsinp red

MHC I Epitope Analysis

Analyzed MHC I epitopes using HLA-A*01-01 allele with a 9-allele length to facilitate determination of the recognized epitopes, and the selected percentile rank value was less than 1. Epitopes with a percentile rank value less than 1 could easily be recognized by antibodies. MHC I epitope analysis was performed on the IEDB websserver. The results of the MHC I epitope analysis can be seen in table no 2.

Table 2. MHC I Epitope Analysis

T Cell	Allele	Start	End	Length	Epitope	Percentile rank
MHC I	HLA-A*01-01	72	80	9	GSEELRSLY	0.02
	HLA-A*01-01	125	133	9	NNSQVSQNY	0.53

MHC II Epitope Analysis

MHC II epitope analysis was performed using the HLA DRB1*01-02 allele with a 15-allele length, and the selected percentile rank value was less than 10. Epitopes with a percentile rank value less than 1 could easily be recognized by antibodies. MHC II epitope analysis was performed on the IEDB websserver. The results of the MHC II epitope analysis can be seen in table no 3.

Table 3. MHC II Epitope Analysis

T Cell	Allele	Start	End	Length	Epitope
MHC II	HLA-DRB1*01-	74	88	15	EELRSLYNTIAVLY

02				
HLA-DRB1*01-02	75	89	15	ELRSLYNTIAVLYCV
HLA-DRB1*01-02	72	86	15	GSEELRSLYNTIAVL
HLA-DRB1*01-02	76	90	15	LRSLYNTIAVLYCVH
HLA-DRB1*01-02	70	84	15	QTGSEELRSLYNTIA
HLA-DRB1*01-02	73	87	15	SEELRSLYNTIAVLY
HLA-DRB1*01-02	71	85	15	TGSEELRSLYNTIAV

B Cell Epitope Analysis

In the B cell analysis performed on the IEDB webserver using the p17 matrix protein sequence, the results obtained are presented in table no 4.

Table 4. B Cell Epitope Analysis

No.	Start	End	Epitop	Length
1.	41	52	ELERFAVNPGLL	12
2.	66	78	QPSLQTGSEELRS	13

B cell analysis of the selected epitopes was performed using the BepiPred method. The accuracy of the BepiPred method for predicting B cell epitopes reaches 80%. The BepiPred method predicts the location of linear B cell epitopes.

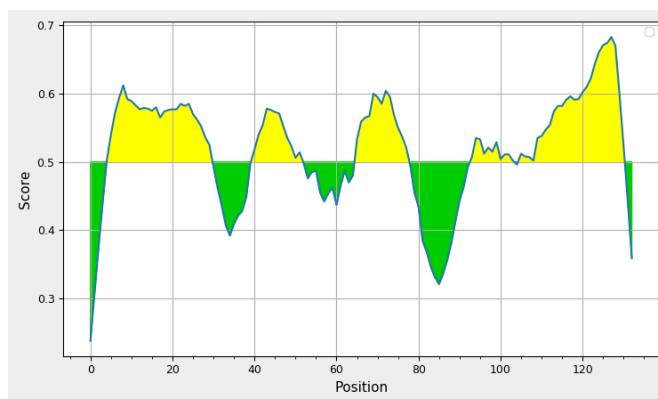


Figure no 1 : Prediction result of B cell epitop

Epitop Analysis

The selected epitope underwent homolog analysis to determine the selected epitope as a vaccine candidate that is not harmful to the body. The results of the homolog analysis can be seen in Table no 5.

Table 5. Epitop Analysis

Lymphocytes	Epitope	Antigenicity	Allergenicity	Toxicity	Human Homology
MHC I	GSEELRSLY*	Antigen	Non-allergen	Non-toxic	Non-homologous
	NNSQVSQNY*	Antigen	Non-allergen	Non-toxic	Non-homologous
MHC II	EELRSLYNTIAVLY	Non-antigen	Allergen	Non-toxic	Non-homologous
	ELRSLYNTIAVLYCV	Antigen	Allergen	Non-toxic	Non-homologous
	GSEELRSLYNTIAVL	Antigen	Allergen	Non-toxic	Non-homologous
	LRSLYNTIAVLYCVH	Non-antigen	Allergen	Non-toxic	Non-homologous
	QTGSEELRSLYNTIA	Non-antigen	Non-allergen	Non-toxic	Non-homologous
	SEELRSLYNTIAVLY	Non-antigen	Allergen	Non-toxic	Non-homologous
	TGSEELRSLYNTIAV*	Antigen	Non-allergen	Non-toxic	Non-homologous
	ELERFAVNPGLL	Non-antigen	Non-allergen	Non-toxic	Non-homologous
Sel B	QPSLQTGSEELRS*	Antigen	Non-allergen	Non-toxic	Non-homologous
	DVKDTKEALDK*	Antigen	Non-allergen	Non-toxic	Non-homologous

Design With Adjuvant and Linker

After obtaining the selected epitope from the antigen analysis, which is non-allergic, non-toxic, and non-homologous, the vaccine candidate design was carried out. The vaccine candidate design was done by incorporating an adjuvant into the selected epitope sequence, which would be linked with an appropriate linker. Adjuvants are protein vaccines that can enhance the immunogenicity of the vaccine.

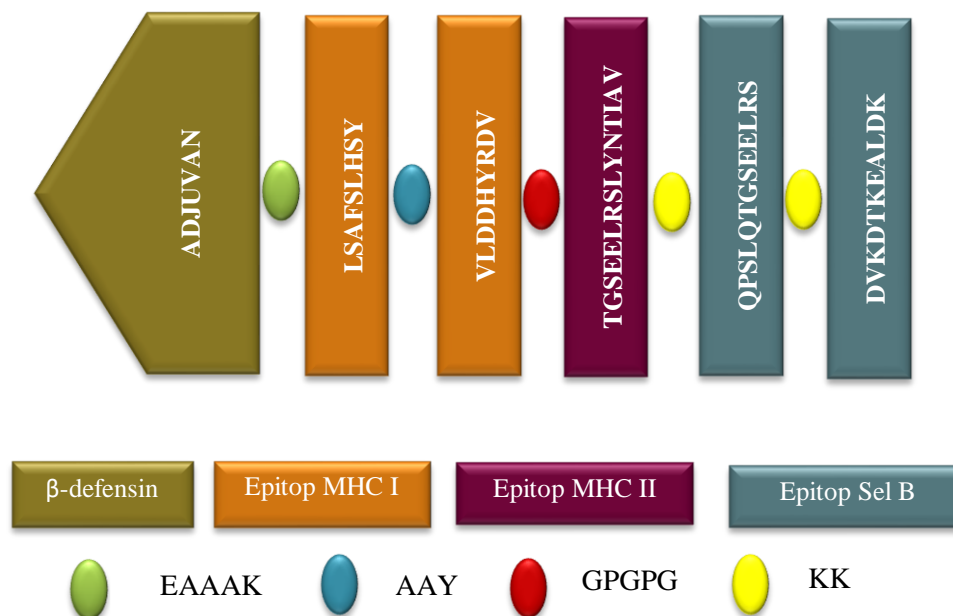


Figure 2. Amino Acid Sequence of HIV Vaccine Candidates

Validation of Vaccine Candidates:

Physicochemical Analysis of Vaccine Candidates

Physicochemical analysis was carried out to determine the physical and chemical properties of the designed vaccine candidate. The results of the physicochemical analysis of the vaccine candidate can be seen in Table no 6.

Table 6. Physicochemical Analysis

Characteristics	Physicochemical	Website
Number of amino acids	116	ProtParam
Molecular weight	12871.66 g/mol	ProtParam
Theoretical pl	9.58	ProtParam
No. Negatively charged residues (Asp+Glu)	13	ProtParam
No. Positively charged residues (Arg+Lys)	24	ProtParam
Extinction coefficient	7825 m ² /mol	ProtParam
Instability index	59.77	ProtParam
Aliphatic index	64.74	ProtParam
Grand average of hydrophaticity (GRAVY)	-0.958	ProtParam

Prediction of Secondary Structure

The prediction of the secondary structure that has been performed on the PSIPRED webserver indicates the formation of helix, strand, and coil structures caused by interactions between C, O, and NH on amino acids in the polypeptide chain.

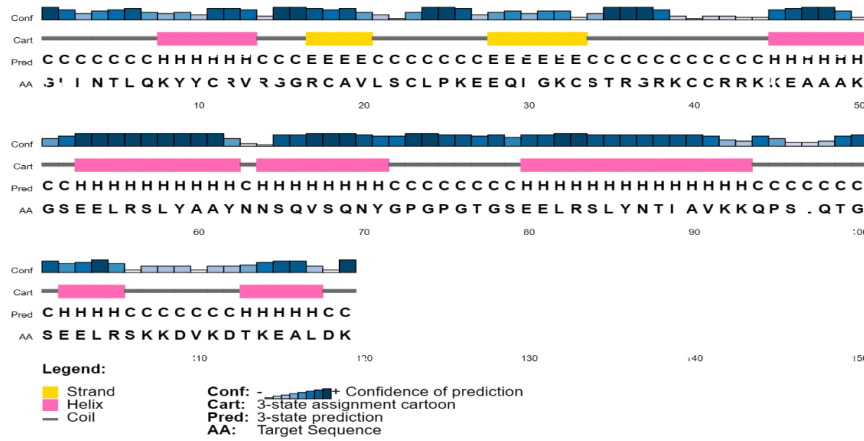


Figure 3. Secondary structure prediction of constructed HIV-1 vaccine protein using PSIPRED server.

Visualization of 3D Vaccine Candidate

The 3D visualization test of the vaccine candidate was carried out on the Galaxy Seoklab webserver. The vaccine candidate visualization method was carried out twice, first by visualizing the vaccine candidate using Galaxy TBM and then by visualizing the vaccine candidate using Galaxy Refine.

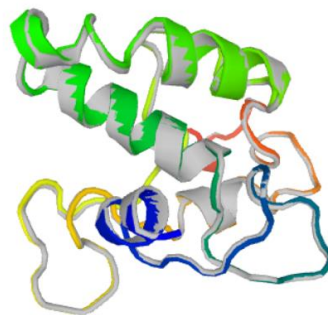


Figure 4. 3D Visualization of HIV-1 Vaccine Candidates

Molecular Docking

Molecular docking was performed using the Haddock webserver, with the aim of predicting the binding between the vaccine candidate and the receptor. The docking score results can be seen in Table no 7.

Table 7. Docking score results

Model	Score
Cluster 1	-89.7
Cluster 7	-69.6
Cluster 3	-66.9
Cluster 8	-64.1

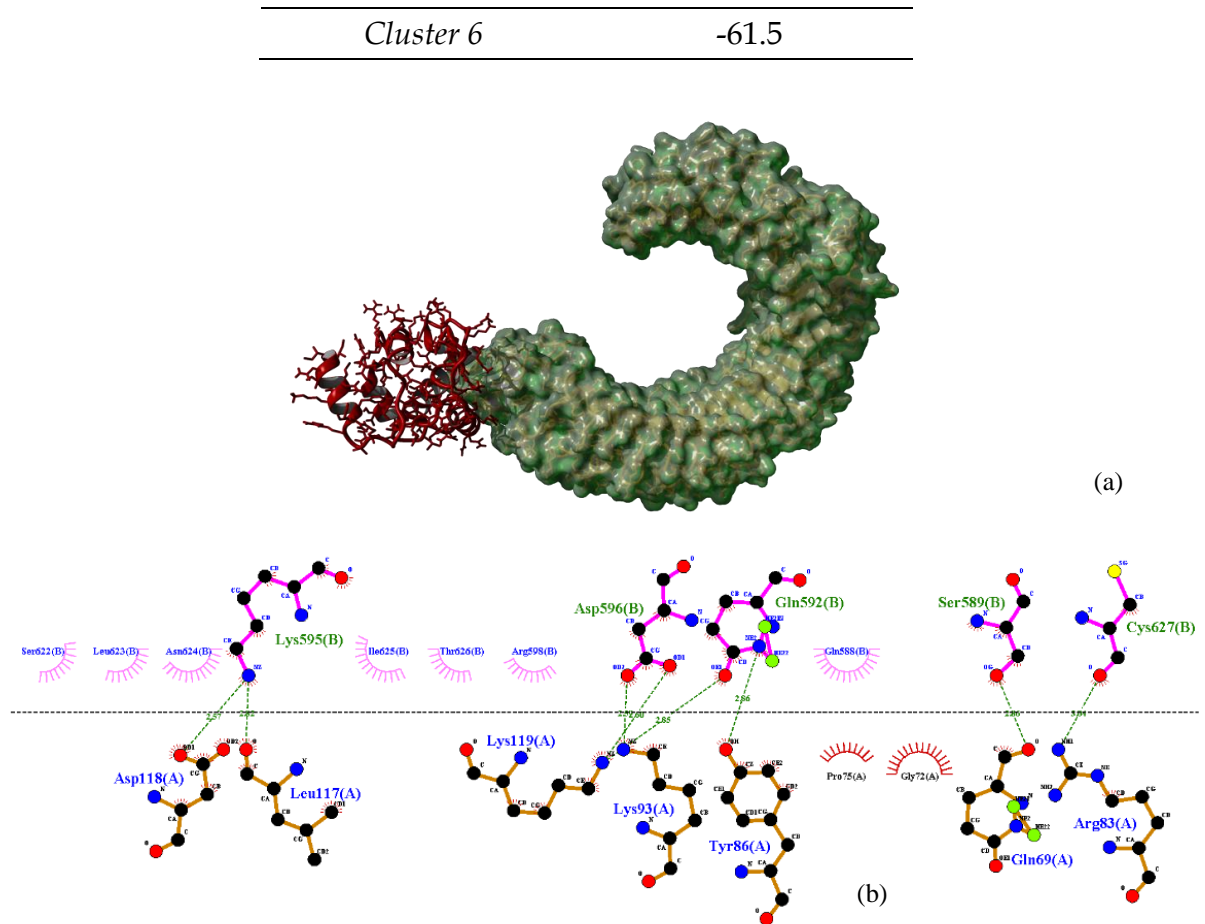


Figure no 5 : Visualization of HIV-1 Vaccine Candidates. (a) 3D visualization
(b) 2D visualization

DISCUSSION

The HIV-1 p17 matrix protein was a structural protein located inside the virus membrane that played a key role throughout the HIV-1 life cycle. The p17 matrix protein can be detected in blood at nanomolar concentrations. After secretion, p17 accumulates and persists in various organs and tissues. In this study, the p17 matrix protein was used as the protein from the HIV virus to design an epitope-based vaccine, where the sequence from the p17 matrix protein was studied.

The sequence used was chosen by determining sequences that met criteria including being antigenic, non-allergic, and non-toxic. The sequence used was antigenic in order to stimulate the immune system to prevent virus infection. Using a threshold value of 0.4, this determination aimed to see the accuracy and sensitivity of the test.

Antigens can include whole or parts of microbes, chemical components of bacterial structures, non-microbial chemical components (egg whites, pollen, tissue or organ transplants). A certain small part of a large antigen molecule can trigger an immune response called an epitope or antigenic determinant.

Epitopes can belong to foreign proteins and self-proteins, and they can be categorized as conformational or linear, depending on their structure and integration with the paratope. T cell epitopes are presented on the antigen-presenting cell (APC) surface, where they bind to major histocompatibility complex (MHC) molecules to induce an immune response.

The general concept behind peptide vaccines is based on a chemical approach to synthesize T cell and B cell epitopes that are identified as immunodominant and capable of inducing specific immunity. Targeting the molecular structure of B cell epitopes can be conjugated with T cell epitopes to form immunogenicity. T cell epitopes bind to MHC to induce an immune response.

The Major Histocompatibility Complex (MHC) protein is divided into two classes, MHC class I and MHC class II. MHC class I and class II play a critical role in the adaptive immune system branch. Both protein classes share the task of presenting surface peptides for T cell recognition. The MHC I peptide complex is presented on nucleated cells and recognized by cytotoxic CD8 T cells. Presentation from MHC II may activate CD4 T cells, leading to coordination and effector cell regulation. T cell epitope analysis aims to identify the shortest peptide in the antigen that is capable of inducing T cell. In the MHC I analysis, there were two epitopes estimated to be HIV vaccine candidates with a percentile rank value of less than one, namely GSEELRSLY and NNSQVSQNY. In the MHC II analysis results, there were seven epitopes estimated to be HIV-1 vaccine candidates with a percentile rank value of less than ten, namely EELRSLYNTIAVLY, ELRSLYNTIAVLYCV, GSEELRSLYNTIAVL, LRSLYNTIAVLYCVH, QTGSEELRSLYNTIA, SEELRSLYNTIAVLY, TGSEELRSLYNTIAV.

For B cell activation, it is mediated by the antigen-IgM binding to the membrane-bound IgM antigen on the surface of the B cell. It is then stated that after antigen-IgM is activated, the B cell will differentiate into plasma cells and secrete antibodies, either in the form of secreted IgM, IgG, or IgA. All the antibody classes produced (IgM, IgG, or IgA) will also recognize the same epitope that induces B cell activation. The B cell analysis results found three epitopes estimated to be vaccine candidates with peptide lengths of 10-20, namely ELERFAVNPGLL, QPSLQTGSEELRS, and DVKDTKEALDK. The selection of epitopes with amino acid lengths of 10-20 is an epitope with an appropriate molecular weight and does not pose excess molecular weight if made into a vaccine candidate. With excessive molecular weight, the epitope cannot be used as a vaccine candidate.

Selected epitopes from the analysis results that meet the criteria as an antigenic epitope, non-allergenic, non-toxic, and non-homologous were designed by combining an adjuvant linked with a linker, as follows: adjuvant-EAAAK-GSEELRSLY-AAY-NNSQVSQNY-GPGPG-TGSEELRSLYNTIAV-KK-QPSLQTGSEELRS-KK-DVKDTKEALDK. A vaccine containing β -defensin as an adjuvant is capable of activating the main innate antiviral immune response and mediating other immunomodulatory activities against a range of viruses. This is what makes the adjuvant effective when conjugated with an antigen.

Furthermore, the adjuvant is combined with an EAAAK linker to enhance the antigenicity and immunogenicity of the peptide-based vaccine. Followed by an MHC I epitope connected with the AAY linker. The AAY linker (Ala-Ala-Tyr) is a protease cleavage site used to increase epitope presentation and enhance protein stability. The linker between MHC I and MHC II is GPGPG, known as the glycine-proline linker to prevent epitope junctional. For the linker between MHC II and B cell is KK. The bi-lysine linker is a linker that establishes immunogenic activity of a vaccine.

The HIV-1 vaccine candidate was analyzed to determine its physicochemical properties, where the results showed that the vaccine candidate contained 116 amino acids, with a molecular weight of 12871.66 g/mol, an isoelectric point (pI) value of 9.58. The total negatively charged residues (Asp+Glu) were 13 residues and the positively charged residues (Arg+Lys) were 24 residues. The molar absorption coefficient or commonly called the extinction coefficient in the vaccine candidate test resulted in a length of 7825 m²/mol. Furthermore, the stability index value of the vaccine candidate was 59.77, where the stability index is a measure of protein that can estimate the stability of a protein. Proteins with a stability index value less than 40 are predicted to be stable, while those larger than 40 are predicted to be unstable. The aliphatic index has a value of 64.74. The GRAVY value of the vaccine candidate was -0.958, indicating that the target protein is hydrophilic.

Next, to predict the binding between the vaccine candidate and the surface receptor of the body, molecular docking was carried out, where the best docking score resulted in the lowest score value. Molecular docking between the protein and the receptor resulted in a lowest energy score of -89.7. A negative sign on the energy value that gets smaller indicates a strong complex formed between the ligand and the standard. This is due to an increase in torsional energy from the complex, making the enzyme and ligand complex stable.

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

Based on the research results, the peptide sequence that had the potential as an HIV-1 vaccine candidate was as follows, adjuvant-EAAAK-GSEELRSLY-AAY-NNSQVSNY-GPGPG-TGSEELRSLYNTIAV-KK-QPSLQTGSEELRS-KK-DVK DTKEALDK. The physicochemical properties of the HIV vaccine candidate had 116 amino acid residues, a molecular weight of 12871.66 g/mol, a theoretical pI of 9.58, 13 negatively charged residues, 24 positively charged residues, an extinction coefficient of 7825 m²/mol, a stability index of 59.77, an aliphatic index of 64.74, and an average hydrophobicity of -0.958. The vaccine design using the p17 protein matrix was not homologous or did not cause autoimmune responses when used as a vaccine candidate.

ADVANCED RESEARCH

Further research was expected to be conducted on the design of an HIV vaccine using other proteins such as the p24 protein present in the HIV virus, as

the matrix protein p17 was found to be less stable when considered as a vaccine candidate.

ACKNOWLEDGMENT

I would like to express my utmost gratitude to all my colleagues who provided advice and support during the writing of this journal. The valuable suggestions you provided have helped me develop a better understanding of the topic and enhance the quality of my journal.

REFERENCES

- Adhiputra, Anak Agung Ngurah. (2018). HIV/AIDS Model Layanan Profesional Konseling Berbasis Front and Analysis. Psikosian : Yogyakarta.
- Ahmad, M. M., & Komari, N. (2022). Pemodelan Calponin Ikan Gabus (*Channa striata*) dengan Phyre2 dan Interaksi dengan Protein Lain. *Jurnal Natural Scientiae*, 2(1), 19-31. <https://doi.org/10.20527/jns.v2i1.4790>.
- Alizadeh, M., Amini-Khoei, H., Tahmasebian, S., Ghatrehsamani, M., Ghatreh Samani, K., Edalatpanah, Y., Rostampur, S., Salehi, M., Ghasemi-Dehnoo, M., Azadegan-Dehkordi, F., Sanami, S., & Bagheri, N. (2022). Designing a novel multi-epitope vaccine against Ebola virus using reverse vaccinology approach. *Scientific Reports*, 12(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11851-z>.
- Alom, M. W., Shehab, M. N., Sujon, K. M., & Akter, F. (2021). Exploring E, NS3, and NS5 proteins to design a novel multi-epitope vaccine candidate against West Nile Virus: An in-silico approach. *Informatics in Medicine Unlocked*, 25, 100644. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2021.100644>.
- Balupuri, A., & Cho, S. J. (2013). Exploration of the Binding Mode of Indole Derivatives as Potent HIV-1 Inhibitors Using Molecular Docking Simulations. *Journal of the Chosun Natural Science*, 6(3), 138-142. <https://doi.org/10.13160/ricns.2013.6.3.138>.
- Behera, S. K., Sabarinath, T., Mishra, P. K. K., Deneke, Y., Kumar, A., Chandrasekar, S., Senthilkumar, K., Verma, M., Ganesh, B., Gurav, A., & Hota, A. (2021). Immunoinformatic Study of Recombinant LigA/BCon1-5 Antigen and Evaluation of Its Diagnostic Potential in Primary and Secondary Binding Tests for Serodiagnosis of Porcine Leptospirosis. *Pathogens*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10091082>.
- Behmard, E., Soleymani, B., Najafi, A., & Barzegari, E. (2020). Immunoinformatic design of a COVID-19 subunit vaccine using entire structural immunogenic epitopes of SARS-CoV-2. *Scientific Reports*, 10(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77547-4>.

- Caccuri, F., Neves, V., Gano, L., Correia, J. D. G., Oliveira, M. C., Mazzuca, P., Caruso, A., & Castanho, M. (2022). The HIV-1 Matrix Protein p17 Does Cross the Blood-Brain Barrier. *Journal of Virology*, 96(1). <https://doi.org/10.1128/jvi.01200-21>.
- Chatanaka, M. K., Ulndreaj, A., Sohaei, D., & Prassas, I. (2022). Immunoinformatics: Pushing the boundaries of immunology research and medicine. *ImmunoInformatics*, 5(December 2021), 100007. <https://doi.org/10.1016/j.immuno.2021.100007>.
- Chen, J., Li, C., Li, R., Chen, H., Chen, D., & Li, W. (2021). Exosomes in HIV infection. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 16(5), 262–270. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000694>.
- Emanuele Fanales-Belasio, Mariangela Raimondo, B. S. and S. B. (2011). HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanità*, 47(4), 363–372. <https://doi.org/10.4415/ANN>.
- Fadaka, A. O., Sibuyi, N. R. S., Martin, D. R., Goboza, M., Klein, A., Madiehe, A. M., & Meyer, M. (2021). Immunoinformatics design of a novel epitope-based vaccine candidate against dengue virus. *Scientific Reports*, 11(1), 1–23. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99227-7>.
- Fiorentini, S., Giagulli, C., Caccuri, F., Magiera, A. K., & Caruso, A. (2010). HIV-1 matrix protein p17: A candidate antigen for therapeutic vaccines against AIDS. *Pharmacology and Therapeutics*, 128(3), 433–444. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.08.005>.
- Gustiananda, M., Sulistyono, B. P., Agustriawan, D., & Andarini, S. (2021). Immunoinformatics analysis of sars-cov-2 orf1ab polyproteins to identify promiscuous and highly conserved t-cell epitopes to formulate vaccine for indonesia and the world population. *Vaccines*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/vaccines9121459>.
- Khalili, S., Jahangiri, A., Borna, H., Ahmadi Zanoos, K., & Amani, J. (2014). Computational vaccinology and epitope vaccine design by immunoinformatics. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 61(3), 285–307. <https://doi.org/10.1556/AMicr.61.2014.3.4>.
- Langton, D. J., Bourke, S. C., Lie, B. A., Reiff, G., Natsu, S., Darlay, R., Burn, J., & Echevarria, C. (2021). The influence of HLA genotype on the severity of COVID-19 infection. *Hla*, 98(1), 14–22. <https://doi.org/10.1111/tan.14284>.

- Li, L., & Petrovsky, N. (2017). Molecular Adjuvants for DNA Vaccines. *Current Issues in Molecular Biology*, 22, 17–40. <https://doi.org/10.21775/CIMB.022.017>.
- Massiah, M. A., Starich, M. R., Paschall, C., Summers, M. F., Christensen, A. M., & Sundquist, W. I. (1994). Three-dimensional Structure of the Human Immunodeficiency Virus Type 1 Matrix Protein. *Journal of Molecular Biology*, 244(2), 198–223. <https://doi.org/10.1006/JMBL.1994.1719>.
- Oenarta, D. G. (2019). Hiv Dan Hpv. *Widya Medika*, 5(2).
- Patronov, A., & Doytchinova, I. (2013). T-cell epitope vaccine design by immunoinformatics. *Open Biology*, 3(JAN). <https://doi.org/10.1098/rsob.120139>.
- Rahadiani, D. (2022). Sistem Imunitas Alamiah dan Sistem Imunitas Adaptif. Natural Immunity System and Adaptive Immunity System. *Nusantara Hasana Journal*, 2(3).
- Rezaldi, F., Taupiqurrohman., Fadillah, M., Rochmat, Agus., Humaedi, Aji., Fadhilah, Fitri. (2021). Identifikasi Kandidat Vaksin COVID-19 Berbasis Peptida dari Glikoprotein Spike SARS CoV-2 untuk Ras Asia secara In Silico. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 10 (1), 77–85. <http://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/jbmi/article/view/5031%0A2299>
- Sanami, S., Rafieian-Kopaei, M., Dehkordi, K. A., Pazoki-Toroudi, H., Azadegan-Dehkordi, F., Mobini, G. R., Alizadeh, M., Nezhad, M. S., Ghasemi-Dehnoo, M., & Bagheri, N. (2022). In silico design of a multi-epitope vaccine against HPV16/18. *BMC Bioinformatics*, 23(1), 1–24. <https://doi.org/10.1186/s12859-022-04784-x>.
- Setiarto, Haryo Bimo. (2021). Penanganan Virus HIV/AIDS. Deepublish : Yogyakarta.
- Sharma, S., Kumari, V., Kumbhar, B. V., Mukherjee, A., Pandey, R., & Kondabagil, K. (2021). Immunoinformatics approach for a novel multi-epitope subunit vaccine design against various subtypes of Influenza A virus. *Immunobiology*, 226(2), 152053. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2021.152053>.
- Simarmata, S. N., Toepak, E. P., Rahman, S., & Angga, S. C. (2022). Design of Vaccine Candidate Based on Ebola Virus Epitop With In Silico Approach. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 16(1), 57. <https://doi.org/10.20527/jstk.v16i1.12167>.

- Sinha, S., Grewal, R. K., & Roy, S. (2020). Modeling phage–bacteria dynamics. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 2131). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0389-5_18.
- Subekti, D. T., Artama, W., Poerwanto, S., Sulistyaningsih, E., & Sari, Y. (2012). Analisis Imunogenisitas Protein GRA1 dari Hasil Kloning Gen GRA1 Takizoit *Toxoplasma gondii*. *Berita Biologi*, 11(1), 43–52.
- Tambunan, U. S. F., & Alamudi, S. (2010). Designing cyclic peptide inhibitor of dengue virus NS3-NS2B protease by using molecular docking approach. *Bioinformation*, 5(6), 250–254. <https://doi.org/10.6026/97320630005250>.
- Zeinolabediny, Y., Caccuri, F., Colombo, L., Morelli, F., Romeo, M., Rossi, A., Schiarea, S., Ciaramelli, C., Airoidi, C., Weston, R., Donghui, L., Krupinski, J., Corpas, R., García-Lara, E., Sarroca, S., Sanfeliu, C., Slevin, M., Caruso, A., Salmona, M., & Diomedede, L. (2017). HIV-1 matrix protein p17 misfolding forms toxic amyloidogenic assemblies that induce neurocognitive disorders. *Scientific Reports*, 7(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10875-0>.

Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) Asal Cileungsi, Bogor Terhadap *Trichophyton mentagrophytes*

Fathin Hamida^{1*}, Anglia Ananda Agustin¹, Yayah Siti Djuhariyah¹

¹Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moch. Kahfi II, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640, Indonesia

*E-mail korespondensi: fathinfarmasi@istn.ac.id

ABSTRAK

Sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) dikenal sebagai tanaman gulma agresif karena memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi. Gulma ini sering tumbuh di area hutan, perkebunan, dan lahan hijau lainnya. Keberadaan gulma ini sangat mengganggu kelangsungan hidup tanaman yang berada di sekitarnya karena sembung rambat mampu tumbuh dengan cepat dan mengeluarkan senyawa alelopati yang dapat menurunkan produktivitas tanaman di sekitarnya. Daun sembung rambat mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis aktivitas antifungi ekstrak etanol 96% daun sembung rambat terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dengan metode difusi cakram. Pengujian aktivitas antifungi dilanjutkan dengan penentuan konsentrasi hambat minimum menggunakan metode dilusi padat. Berdasarkan uji aktivitas antifungi dengan difusi cakram menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun sembung rambat memiliki aktivitas antifungi terhadap *Trichophyton mentagrophytes* pada konsentrasi 200 mg/mL, 400 mg/mL, dan 600 mg/mL. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun sembung rambat terhadap *Trichophyton mentagrophytes* diperoleh pada konsentrasi 100 mg/mL.

Kata kunci: antifungi, *Mikania mirantha* Kunth., *Trichophyton mentagrophytes*

Antifungal Activity of Sembung Rambat leaves (Mikania micrantha Kunth.) Extracts from Cileungsi, Bogor against Trichophyton mentagrophytes

ABSTRACT

Sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) is known as an aggressive weed because it has high reproductive ability. This weed often grows in forest areas, plantations, and other green areas. The existence of these weeds greatly interferes with the survival of plants in the vicinity because of sembung rambat are able to grow quickly and secrete allelopathic compounds which can reduce the productivity of the surrounding plants. Sembung rambat leaves contain secondary metabolites such as flavonoids, tannins, saponins and steroids. This study aimed to analyze the antifungal activity of 96% ethanol extract of sembung rambat leaves against *Trichophyton mentagrophytes* using the disc diffusion method. Antifungal activity testing was continued with the determination of the minimum inhibitory concentration using the solid dilution method. Based on the antifungal activity test by disc diffusion, it was shown that the 96% ethanol extract of sembung rambat leaves had antifungal activity against *Trichophyton mentagrophytes* at concentrations of 200 mg/mL, 400 mg/mL, and 600 mg/mL. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the ethanol extract of sembung rambat leaves against *Trichophyton mentagrophytes* was obtained at a concentration of 100 mg/mL.

Keywords: antifungal, *Mikania mirantha* Kunth., *Trichophyton mentagrophytes*

PENDAHULUAN

Dermatofitosis merupakan penyakit kulit menular yang disebabkan oleh fungi dermatofit. Infeksi dermatofitosis menyebabkan kulit mengalami dermatitis eksfoliatif (kulit meradang), timbul eritema (bercak kemerahan), dan *scaling skin* (kulit bersisik, tampak kering, dan pecah-pecah) (Hidayah *et al.*, 2021). Dermatofitosis menyebar luas di dunia terutama di negara

berkembang dan negara beriklim tropis seperti Indonesia (Araya *et al.*, 2020; Sariyanti *et al.*, 2021). Kejadian dermatofitosis di Indonesia cukup tinggi dengan nilai beragam di beberapa wilayah (Sitepu *et al.*, 2018; Sariyanti *et al.*, 2021; Sarumpaet & Wahyuni, 2021). Dermatofitosis disebabkan oleh fungi dermatofit. Fungi ini memiliki kemampuan keratinolitik dan dikenal sebagai fungi keratinofilik karena keratin menjadi substrat dan sumber nutrisi bagi pertumbuhannya (Sharma *et al.*, 2015). Fungi ini menginvasi jaringan yang

mengandung keratin seperti stratum korneum, rambut, dan kuku (Dellière et al., 2022).

Salah satu fungi dermatofit yaitu *Trichophyton mentagrophytes*. *Trichophyton mentagrophytes* berasal dari famili Arthrodermataceae, ordo Onygenales (Kandemir et al., 2022). Fungi ini diketahui terlibat dalam penyakit dermatofitosis seperti tinea pedis, tinea unguium, tinea kapitis, tinea korporis, dan tinea barbae (Araya et al., 2020; Frías-De-león et al., 2020; Sariyanti et al., 2021; Dellière et al., 2022). *Trichophyton mentagrophytes* merupakan fungi dermatofit dominan penyebab infeksi dermatofitosis (Sitepu et al., 2018; Frías-De-león et al., 2020). Selain ditemukan pada manusia, fungi ini sering ditemukan sebagai fungi penyebab infeksi kulit pada hewan rodensia, hewan liar, dan hewan ternak (Gnat et al., 2020).

Sejauh ini pengobatan infeksi dermatofitosis yang disebabkan oleh *Trichophyton mentagrophytes* adalah menggunakan terbinafin dan agen antifungi lainnya baik oral maupun topikal (Nigam, 2015; Hidayah et al., 2021; Dellière et al., 2022). Periode pengobatan yang panjang menggunakan antifungi sintetik tidak hanya menimbulkan efek samping buruk bagi kesehatan juga dapat memicu munculnya fungi resisten. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa sejak satu dekade terakhir telah ditemukan kejadian resistensi *Trichophyton mentagrophytes* terhadap terbinafin dan golongan agen antifungi lainnya dan kasus resistensi terus meluas (Alipour & Mozafari, 2015; Łagowski et al., 2020; Nenoff et al., 2020; Taghipour et al., 2020; Fattahi et al., 2021; Shah et al., 2023). Hal ini menjadi perhatian untuk melakukan studi pencarian agen antifungi yang berasal dari bahan alam yang lebih aman dan efektif sebagai agen antifungi alternatif seperti tumbuhan sembung rambat.

Tumbuhan sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) di dalam klasifikasi tumbuhan termasuk ke dalam filum Angiospermae dan famili Asteraceae. Sembung rambat merupakan tumbuhan asli asal kawasan tropis Amerika, namun tumbuh luas di wilayah Pasifik Selatan dan Asia Tenggara (Day et al., 2016). Sembung rambat dikenal sebagai tumbuhan gulma yang memiliki kemampuan reproduksi tinggi dan sulit dikendalikan pertumbuhannya. Gulma ini sering menginvasi lahan pertanian, kawasan hutan, dan lahan hijau lainnya sehingga menyebabkan produktivitas vegetasi tumbuhan di sekitarnya menjadi sangat menurun (Poudel et al., 2019).

Sejak lama sembung rambat telah digunakan sebagai obat tradisional diantaranya yaitu jus daunnya digunakan untuk mengobati ruam kulit dan gatal, penyembuh luka, pereda sakit perut, rematik, dan flu (Ishak et al., 2018). Hasil penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa sembung rambat memiliki berbagai aktivitas farmakologi diantaranya yaitu sebagai koagulan, analgetik, antibakteri, antifungi, antiinflamasi, antikanker, dan antidiabetik (Jyothilakshmi et al., 2015; Deori et al., 2016; Matawali et al., 2016; Perawati et al., 2019; Sheam et al., 2020). Aktivitas farmakologi ini terkait oleh komponen senyawa aktif yang terkandung pada tumbuhan sembung rambat. Sembung rambat

dilaporkan mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, glikosida, dan terpenoid (Sumantri et al., 2020).

Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antifungi ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. Metode yang digunakan adalah difusi cakram untuk menentukan diameter daya hambat dan dilusi padat untuk menentukan konsentrasi hambat minimum. Ekstrak daun sembung rambat diperoleh menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Bahan uji yang digunakan adalah daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) yang diperoleh dari perkebunan di Cileungsi, Bogor, Jawa Barat. Tanaman sembung rambat telah dideterminasi di Laboratorium Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor, Indonesia (nomor surat determinasi: 203/IPH.I.01/If.07/II/2019). Fungi uji yang digunakan adalah *Trichophyton mentagrophytes* diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi ISTN Jakarta. Bahan kimia yang digunakan adalah bahan-bahan pengujian penapisan fitokimia, cakram ketokonazol 15 µg (Oxoid), DMSO 10% (Merck), dan NaCl 0,85% steril. Bahan mikrobiologis yang digunakan yaitu *Saboraud Dextrose Agar* (Oxoid) digunakan sebagai media pertumbuhan fungi dan media uji antifungi.

Persiapan dan Ekstraksi Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) dengan Metode Maserasi. Prosedur persiapan dan ekstraksi pada penelitian ini modifikasi dari (Syafriana et al., 2021). Modifikasi dilakukan pada jenis pelarut ekstraksi. Daun sembung rambat dilakukan sortasi basah dipisahkan daun segar dengan daun yang sudah rusak atau layu. Daun sembung rambat segar sebanyak 9 kg dicuci menggunakan air bersih yang mengalir lalu ditiriskan agar terbebas dari sisa air pencucian. Daun kemudian dipotong kecil berukuran ±2 cm bertujuan untuk mempercepat pengeringan. Selanjutnya, daun dikering-anginkan selama 7 hari hingga mengering lalu dilakukan sortasi kering. Pengeringan bahan yang akan diekstrak bertujuan untuk mengurangi kadar air pada daun sehingga bahan tidak rusak dalam penyimpanan lama dan dapat menekan kontaminasi. Daun kering dihaluskan menjadi serbuk kering menggunakan blender dan diayak dengan ayakan setara dengan 60 mesh (250 µm). Penyerbukan simplisia bertujuan untuk mengoptimalkan interaksi antara serbuk simplisia dengan pelarut sehingga proses ekstraksi pun menjadi optimal. Serbuk yang diperoleh disimpan dalam botol kaca kedap udara dan akan digunakan pada proses ekstraksi. Pembuatan serbuk simplisia bertujuan untuk efisiensi waktu dan efektivitas proses ekstraksi.

Sebanyak 900 g serbuk simplisia daun sembung rambat dimaserasi dengan pelarut etanol 96% (serbuk simplisia: pelarut 1:10 (b/v)) selama 24 jam pada suhu ruang dan dilakukan pengadukan tiap 6 jam sekali. Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring

dan diambil filtratnya. Ampas yang diperoleh diremaserasi 2x dengan prosedur dan jenis pelarut yang sama. Hasil maserasi berupa filtrat diuapkan menggunakan *vaccum rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga dihasilkan ekstrak kental daun sembung rambat.

Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Sembung Rambat (EDSR) Secara Kualitatif. Uji penapisan fitokimia mengacu pada prosedur (Rachmatiah & Octaviani, 2022). Penapisan fitokimia dilakukan terhadap serbuk simplisia dan ekstrak daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) meliputi identifikasi alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan steroid.

Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Sembung Rambat (EDSR) Menggunakan Metode Difusi Cakram. Sebanyak 0,1 mL (9×10^6 CFU/mL) inokulum fungi *Trichophyton mentagrophytes* disebar secara merata pada permukaan media padat SDA (*Saboraud Dextrose Agar*) menggunakan batang L. Kemudian, diletakkan sebanyak lima kertas cakram pada permukaan media uji. Lima kertas cakram tersebut mengandung 15 µg ketokonazol sebagai kontrol positif, 20 µL DMSO 10% sebagai kontrol negatif, 20 µL EDSR 200 mg/mL, 20 µL EDSR 400 mg/mL, dan 20 µL EDSR 600 mg/mL. Pengujian dilakukan secara duplo dengan 2x pengulangan. Seluruh media uji diinkubasi pada suhu ruang selama 72 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong lalu diinterpretasikan kategori daya hambatnya berdasarkan (Hamida et al., 2022) yaitu:

Tabel 1. Kategori Interpretasi Daya Hambat Antimikroba

Rata – Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori Interpretasi	Simbol
1 – 8	Lemah	(+)
9 – 14	Moderat	(++)
15 – 19	Kuat	(+++)
>19	Sangat kuat	(++++)

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Sembung Rambat (EDSR) Menggunakan Metode Dilusi Padat. Penentuan aktivitas antifungi dilanjutkan dengan penentuan konsentrasi hambat menggunakan metode dilusi padat. Penentuan konsentrasi pada uji ini didasarkan pada hasil diameter daya hambat yang diperoleh dari konsentrasi terendah pada uji difusi cakram sebelumnya. Disiapkan tiga cawan petri masing-masing berisi 15 mL media SDA cair (suhu \pm 45 °C) dan 1 mL EDSR dengan variasi konsentrasi yaitu konsentrasi

200 mg/mL, 100 mg/mL, dan 50 mg/mL. Kemudian setiap cawan ditambahkan dengan 1 mL (9×10^6 CFU/mL) inokulum *Trichophyton mentagrophytes*, lalu seluruh cawan dihomogenisasi dengan cara digoyangkan secara perlahan hingga seluruhnya tercampur merata. Selanjutnya seluruh cawan diinkubasi pada suhu ruang selama 72 jam lalu diamati pertumbuhan fungi yang ada pada setiap cawan. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth.)

Daun sembung rambat kering digunakan sebagai bahan ekstraksi pada penelitian ini. Penggunaan daun kering sebagai bahan ekstraksi dipertimbangkan karena periode waktu yang dibutuhkan sejak panen hingga maserasi membutuhkan waktu yang tidak singkat sehingga hal ini dapat menyebabkan daun segar rusak dan layu sebelum dilakukan ekstraksi. Selain itu, pengeringan juga dapat menghambat terjadinya kontaminasi pada bahan dalam penyimpanan yang lama. Fonmboh et al.(2020) menjelaskan bahwa penggilingan dan pengeringan memengaruhi hasil ekstraksi. Derajat kehalusan simplisia serbuk menjadi faktor yang berpengaruh dalam proses ekstraksi. Simplisia serbuk dengan derajat halus sangat halus ($< 180 \mu\text{m}$) dapat mempersulit proses penyaringan dan bahkan menyebabkan simplisia rusak dan berlendir (Handa, 2008; Kemenkes RI, 2008). Simplisia serbuk daun sembung rambat memiliki karakteristik yaitu bubuk berwarna hijau coklat, beraroma khas dan memiliki tekstur yang halus (**Gambar 1**).

Maserasi merupakan cara yang sederhana dan metode paling umum yang digunakan untuk penyarian simplisia dari bahan tanaman. Perendaman simplisia tanaman di dalam pelarut organik pada proses maserasi menyebabkan terjadinya pemecahan dinding sel dan membran sel tanaman sehingga komponen senyawa aktif yang terlepas dari sitoplasma akan terlarut bersama pelarut organik (Wijaya et al., 2022). Pelarut etanol 96% adalah pelarut yang bersifat universal artinya pelarut ini mampu menarik komponen senyawa aktif baik yang bersifat polar, semi polar, dan non-polar, selain itu aman dan tidak toksik (Ramadhani et al., 2020). Ekstrak kental daun sembung rambat yang diperoleh adalah sebanyak 117,5 g dengan nilai rendemen sebesar 13,05%. Nilai rendemen suatu ekstrak dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah jenis metode ekstraksi, durasi waktu ekstraksi, dan pelarut yang digunakan (Wijaya et al., 2022).



Gambar 1. Kondisi daun sembung rambut sebelum ekstraksi
Daun segar (a); daun yang dipotong – potong setelah dikeringkan (b); simplisia serbuk daun (c)

Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Sembung Rambut (EDSR) Secara Kualitatif

Berdasarkan uji penapisan fitokimia diperoleh bahwa serbuk dan ekstrak daun sembung rambut mengandung senyawa flavonoid, tannin, saponin, dan steroid. Serbuk dan ekstrak daun sembung rambut tidak mengandung alkaloid (**Tabel 2**). Hasil ini berbeda dengan hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol 96% daun sembung rambut yang dilakukan oleh penelitian sebelumnya. Ekstrak etanol daun sembung rambut yang diperoleh dari Kota Jambi mengandung alkaloid dan tidak mengandung tanin (Perawati *et al.* (2019)). Berbeda dengan Matawali *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa ekstrak metanol daun sembung rambut yang berasal dari Sabah, Malaysia yang diuji menunjukkan terdeteksi alkaloid namun tidak terdeteksi flavonoid dan saponin. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan kandungan senyawa fitokimia suatu ekstrak tidak hanya dipengaruhi oleh jenis pelarutnya (Arifianti *et al.*, 2014), namun juga dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan habitat tumbuhnya tanaman tersebut, seperti kondisi fisik dan kimiawi tanah, serta iklim dan cuaca lingkungan (Rachmatiah & Octaviani, 2022).

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak daun sembung rambut (*Mikania micrantha* Kunth.)

No	Senyawa Fitokimia	Hasil Pengamatan	
		Serbuk	Ekstrak
1	Alkaloid	-	-
2	Flavonoid	+	+
3	Tanin	+	+
4	Saponin	+	+
5	Steroid	+	+

Keterangan:

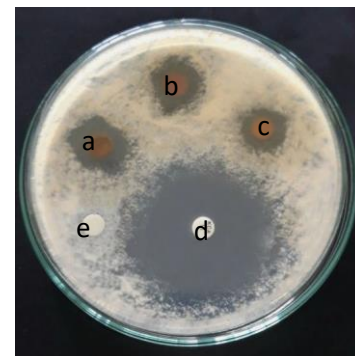
(+): senyawa terdeteksi

(-): senyawa tidak terdeteksi

Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Sembung Rambut (EDSR) Menggunakan Metode Difusi Cakram

Hasil uji aktivitas antifungi ekstrak daun sembung rambut (EDSR) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* menunjukkan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antifungi yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram uji (**Gambar 2**). Diameter zona hambat EDSR tampak berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi EDSR. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi EDSR maka akan semakin besar aktivitas antifungi. Selain itu, keseluruhan

konsentrasi uji EDSR menunjukkan daya hambat moderat (sedang) (**Tabel 3**). Diameter zona hambat EDSR 600 mg/mL tampak lebih kecil dibandingkan dengan diameter zona hambat ketokonazol. Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat antifungi EDSR 600 mg/mL belum dapat mengungguli daya hambat ketokonazol terhadap *T. mentagrophytes*. Ketokonazol bekerja dengan cara menghambat enzim sitokrom P-450 pada fungi sehingga mengganggu sintesis ergosterol (Nigam, 2015). Berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa ekstrak metanol daun sembung rambut yang diperoleh dari desa Kottayam, India memiliki aktivitas antidekatofitosis yang setara dengan daya hambat ketokonazol terhadap *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, dan *Trichophyton rubrum* (Jyothilakshmi *et al.*, 2015). Selain itu ekstrak metanol daun sembung rambut juga memiliki aktivitas yang kuat dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* (Alfiah *et al.*, 2015). Zhang *et al.* (2023) menjelaskan bahwa terdapat beragam mekanisme aksi antifungi alami dari tanaman namun secara umum sifatnya non-selektif dan acak (*promiscuous*). Mekanisme aksi tersebut diantaranya yaitu menghambat sintesis glukukan dan kitin, menghambat sintesis ergosterol, meningkatkan permeabilitas membran (berikatan dengan sterol), mengganggu metabolisme lipid, mengganggu fungsi DNA/RNA, mengganggu fungsi mitokondria, mengganggu fungsi tubulin, dan mengganggu sistem transpor sel.



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antifungi ekstrak daun sembung rambut (EDSR) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* pada media SDA dengan metode difusi cakram. EDSR 600 mg/mL (a); EDSR 400 mg/mL (b); EDSR 200 mg/mL (c); Ketokonazol 15µg (d); DMSO 10% (e)

Tabel 3. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun sembung rambat (EDSR) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* pada Media SDA

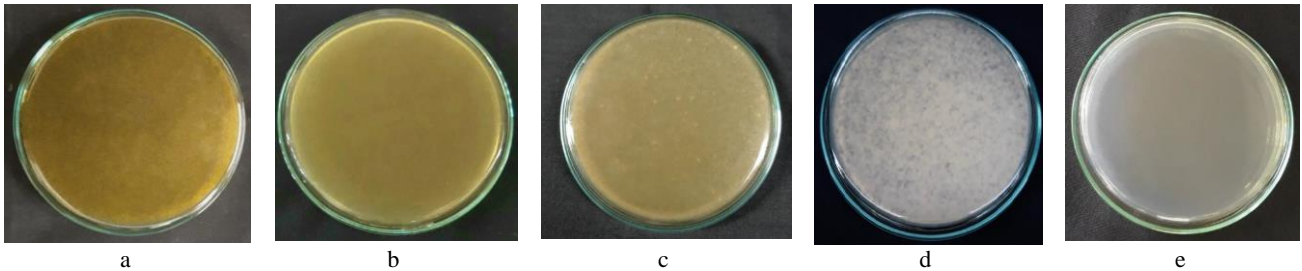
Bahan Uji	Rata-rata diameter zona hambat (mm)	Kategori Daya Hambat
Ketokonazol 15 µg (Kontrol positif)	38,67	Sangat kuat
EDSR 600 mg/mL	13,62	Moderat
EDSR 400 mg/mL	11,77	Moderat
EDSR 200 mg/mL	10,32	Moderat
DMSO 10% (Kontrol negatif)	-	-

Keterangan: (-): tidak terdefinisi

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Sembung Rambat (EDSR) Menggunakan Metode Dilusi Padat

Konsentrasi hambat minimum EDSR terhadap *T. mentagrophytes* diperoleh pada konsentrasi 100 mg/mL (Tabel 4). Hal ini ditunjukkan pada kondisi media cawan uji yang tidak ditumbuhi oleh *T. mentagrophytes* setelah inkubasi 72 jam. Berbeda dengan EDSR 100 mg/mL, media cawan uji EDSR 50 mg/mL ditumbuhi oleh *T. mentagrophytes*. Artinya pada penelitian ini tampak

aktivitas antifungi EDSR 50 mg/mL tidak efektif menghambat pertumbuhan *T. mentagrophytes* (Gambar 3). Aktivitas antifungi yang dimiliki oleh daun sembung rambat sangat erat kaitannya dengan komponen senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Senyawa aktif yang paling banyak ditemui pada daun sembung rambat yaitu senyawa fenolik, flavonoid, kuinon, *caryophyllene*, dan senyawa golongan seskuiterpen lakton (Matawali et al., 2016; Ishak et al., 2018).



Gambar 3. Hasil Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) EDSR terhadap *T. mentagrophytes* pada media SDA setelah inkubasi 72 jam dengan metode dilusi padat. Tidak terdapat pertumbuhan fungi pada EDSR 200 mg/mL (a); tidak terdapat pertumbuhan fungi pada EDSR 100 mg/mL (b); terdapat sedikit pertumbuhan fungi pada EDSR 50 mg/mL (c); terdapat pertumbuhan fungi pada kontrol positif (media SDA+inokulum *T. mentagrophytes*) (d); tidak terdapat pertumbuhan fungi pada kontrol negatif (media SDA) (e)

Senyawa fenolik bersifat toksik bagi mikroorganisme. Hal ini disebabkan senyawa fenolik terlibat dalam menghambat kerja enzim seluler dan dapat berinteraksi nonspesifik dengan protein tertentu (Arif et al., 2009). *Caryophyllene* memiliki aktivitas antifungi sangat kuat namun belum dapat terdefinisi mekanisme aksi senyawa ini sebagai fungisida (Neta et al., 2017). Senyawa kuinon merusak ikatan polipeptida dinding sel fungi dan menyebabkan inaktivasi sintesis protein dan fungsi seluler (Sheam et al., 2020). Li et al., (2013) dalam penelitiannya melaporkan bahwa daun sembung rambat mengandung senyawa aktif golongan seskuiterpen lakton yang berperan sebagai antimikrob diantaranya yaitu *deoxymikanolide*, *scandenolide*, *dihydroscandenolide*. Senyawa tersebut sampai saat ini belum diketahui pasti mekanisme aksinya sebagai agen antimikrob. Selain sebagai antimikrob senyawa tersebut juga memiliki aktivitas antiinflamasi. Hal ini menjadi objek yang menarik untuk dikaji lebih dalam. Karena saat ini pengobatan infeksi dermatofitosis tidak hanya menggunakan agen fungisidal tunggal namun agen fungisidal yang dikombinasi dengan agen antiinflamasi yang digunakan secara topikal. Penggunaan ekstrak daun sembung rambat untuk pengobatan dermatofitosis akan

menjadi lebih efisien. Karena beberapa senyawa aktif yang terkandung di dalamnya selain memiliki aktivitas antifungi juga terlibat sebagai agen antiinflamasi sekaligus. Tanaman sembung rambat merupakan salah satu tanaman yang merugikan di bidang pertanian karena sifatnya yang antagonis terhadap tanaman di sekitarnya, namun dibalik itu semua sembung rambat menjanjikan dalam dunia farmasi dan medis (Poudel et al., 2019).

Tabel 4. Hasil uji konsentrasi hambat minimum ekstrak daun sembung rambat (EDSR) terhadap *T. mentagrophytes* menggunakan metode dilusi padat pada media SDA

Bahan Uji	Hasil
Kontrol positif (media SDA+inokulum <i>T. mentagrophytes</i>)	+++
EDSR 200 mg/mL	-
EDSR 100 mg/mL	-
EDSR 50 mg/mL	+
Kontrol negatif (media SDA saja)	-

Keterangan:

(-): tidak ada pertumbuhan

(+): pertumbuhan sedikit

(++): pertumbuhan sedang

(+++): pertumbuhan sangat banyak

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 96% daun sembung rambat memiliki aktivitas antifungi terhadap pertumbuhan *Trichophyton mentagrophytes*. Konsentrasi hambat minimum diperoleh pada konsentrasi 100 mg/mL. Aktivitas antifungi diperkirakan terkait dengan senyawa fitokimia yang terkandung pada daun sembung rambat, yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan steroid.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfiah, R. R., Khotimah, S., & Turnip, M. (2015). Efektivitas ekstrak metanol daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Protobiont*, 4(1), 52–57.
- Alipour, M., & Mozafari, N. A. (2015). Terbinafine susceptibility and genotypic heterogeneity in clinical isolates of *Trichophyton mentagrophytes* by random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Journal de Mycologie Medicale*, 25(1), e1–e9. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.09.001>
- Araya, S., Tesfaye, B., & Fente, D. (2020). Epidemiology of dermatophyte and non-dermatophyte fungi infection in Ethiopia. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 13, 291–297. <https://doi.org/10.2147/CCID.S246183>
- Arif, T., Bhosale, J. D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, G. S., & Dabur, R. (2009). Natural products - Antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian Natural Products Research*, 11(7), 621–638. <https://doi.org/10.1080/10286020902942350>
- Arifianti, L., Oktarina, R. D., & Kusumawati, I. (2014). Pengaruh jenis pelarut pengekstraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus*. *E-Journal Planta Husada*, 2(1), 3–6.
- Day, M. D., Clements, D. R., Gile, C., Senaratne, W. K. A. D., Shen, S., Weston, L. A., & Zhang, F. (2016). Biology and impacts of Pacific Islands invasive species 13 *Mikania micrantha* Kunth (Asteraceae) 1. *Pacific Science*, 70(3), 257–285. <https://doi.org/10.2984/70.3.1>
- Dellière, S., Joannard, B., Benderdouche, M., Mingui, A., Gits-muselli, M., Hamane, S., Alanio, A., Petit, A., Gabison, G., Bagot, M. et al. (2022). Emergence of difficult-to-treat tinea corporis caused by *Trichophyton mentagrophytes*. 28(1), 1–5.
- Deori, C., Dutta, G., Das, S., & Phukan, D. (2016). Analgesic activity of ethanolic extract of leaves of *Mikania micrantha* on experimental animal models Chinmoyee. *Pharma Science Monitor*, 2(4), 1135–1151.
- Fattahi, A., Shirvani, F., Ayatollahi, A., Rezaei-Matehkolaei, A., Badali, H., Lotfali, E., Ghasemi, R., Pourpak, Z., & Firooz, A. (2021). Multidrug-resistant *Trichophyton mentagrophytes* genotype VIII in an Iranian family with generalized dermatophytosis: report of four cases and review of literature. *International Journal of Dermatology*, 60(6), 686–692. <https://doi.org/10.1111/ijd.15226>
- Fonmboh, D. J., Abah, E. R., Fokunang, T. E., Herve, B., Teke, G. N., Rose, N. M., Borgia, N.N., Fokunang, L.B., Andrew, B.N., Kaba, N. et al. (2020). An Overview of methods of extraction, isolation and characterization of natural medicinal plant products in improved traditional medicine research. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 9(2): 31–57. <https://doi.org/10.9734/ajrimps/2020/v9i230152>
- Frías-De-león, M. G., Martínez-Herrera, E., Atoche-Diéguez, C. E., González-Cespón, J. L., Uribe, B., Arenas, R., & Rodríguez-Cerdeira, C. (2020). Molecular identification of isolates of the trichophyton mentagrophytes complex. *International Journal of Medical Sciences*, 17(1), 45–52. <https://doi.org/10.7150/ijms.35173>
- Gnat, S., Łagowski, D., Nowakiewicz, A., Osińska, M., & Kopiński, Ł. (2020). Population differentiation, antifungal susceptibility, and host range of *Trichophyton mentagrophytes* isolates causing recalcitrant infections in humans and animals. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 39(11), 2099–2113. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03952-2>
- Handa, S S. (2008). An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In Sukhdev Swami Handa, S. P. S. Khanuja, G. Longo, & D. D. Rakesh (Ed.), *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Itali: ICS UNIDO. Hlm. 21–54.
- Hidayah, R. M. N., Anjani, A. D., Ramali, L. M., Suwarsa, O., & Gunawan, H. (2021). Exfoliative dermatitis due to dermatophytosis. *Journal of Infection in Developing Countries*, 15(2), 306–309. <https://doi.org/10.3855/jidc.12218>
- Ishak, A. H., Shafie, N. H., Esa, N. M., Bahari, H., & Ismail, A. (2018). From weed to medicinal plant: Antioxidant capacities and phytochemicals of various extracts of *Mikania micrantha*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 20(3), 561–568. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0522>
- Jyothilakshmi, M., Jyothis, M., & Latha, M. S. (2015). Antidermatophytic activity of *Mikania micrantha* Kunth: an invasive weed. *Pharmacognosy Research*, 7, S20–S25. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.157994>
- Kandemir, H., Dukik, K., de Melo Teixeira, M., Stielow, J. B., Delma, F. Z., Al-Hatmi, A. M. S., Sarah A. Ahmed, S.A., · Ilkit, M., de Hoog, G.S. (2022). Phylogenetic and ecological reevaluation of the order onygenales in *fungus diversity*, 115: 1-72. <https://doi.org/10.1007/s13225-022-00506-z>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia [Kemenkes RI]. (2008). Farmakope herbal edisi I 2008. Jakarta (ID): *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Łagowski, D., Gnat, S., Aneta Nowakiewicz, Osińska, M., & Dyląg, M. (2020). Intrinsic resistance to

- terbinafine among human and animal isolates of *Trichophyton mentagrophytes* related to amino acid substitution in the squalene epoxidase. *Infection*, 48:889–897.
- Li, Y., Jun, L., Yuan, L., Wang, X. xia, & Ao cheng, C. (2013). Antimicrobial potential and chemical constituent of *Mikania micrantha* H. B. K. *African Journal of Microbiology Research*, 7(20), 2409–2415. <https://doi.org/10.5897/ajmr2013.5451>
- Matawali, A., Eng How, S., Jualang Azlan, G., Ping Chin, L., Siew Eng, H., & Azlan Gansau, J. (2016). Antibacterial and phytochemical investigations of *Mikania micrantha* H.B.K. (Asteraceae) from Sabah, Malaysia. *Transactions on Science and Technology*, 3(2), 244–250.
- Nenoff, P., Verma, S. B., Ebert, A., Süß, A., Fischer, E., Auerswald, E., Dessoi, S., Hofmann, W., Schmidt, S., Neubert, K. et al. (2020). Spread of terbinafine-resistant trichophyton mentagrophytes type VIII (India) in Germany—“the tip of the iceberg?” *Journal of Fungi*, 6(4), 1–20. <https://doi.org/10.3390/jof6040207>
- Neta, M. C. S., Vittorazzi, C., Guimarães, A. C., Martins, J. D. L., Fronza, M., Endringer, D. C., & Scherer, R. (2017). Effects of β -caryophyllene and *Murraya paniculata* essential oil in the murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time-kill curve studies. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 190–197. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1254251>
- Nigam, P. K. (2015). Antifungal drugs and resistance: Current concepts. *Our Dermatology Online*, 6(2), 212–221. <https://doi.org/10.7241/ourd.20152.58>
- Perawati, S., Andriani, L., Pratama, S., & Humayroh, H. (2019). Aktivitas koagulan ekstrak dan fraksi daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth.). *Chempublish Journal*, 4(1), 30–37. <https://doi.org/10.22437/chp.v4i1.6909>
- Poudel, M., Adhikari, P., & Thapa, K. (2019). Biology and control methods of the alien invasive weed *Mikania micrantha*: a review. *Environmental Contaminants Reviews*, 2(2), 06–12. <https://doi.org/10.26480/ecr.02.2019.06.12>
- Rachmatiah, T., & Octaviani, R. (2022). Aktivitas antifungi ekstrak daun bisbul (*Diospyros blancoi* A. DC.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*. *Sainstech Farma (Jurnal Ilmu Kefarmasian)*, 15(2), 57–64.
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining fitokimia dan penetapan kadar flavonoid total serta fenolik total ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1), 8–18. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v3i1.481>
- Sariyanti, M., Agustria, P. M., Herlambang, W. F., Sinuhaji, B., Wibowo, R. H., Lestari, N., Nugraheni, E., & Sipriyadi. (2021). Identification of dermatophyte fungi causing tinea pedis and tinea unguium in Malabero Coastal communities, Bengkulu. *Microbiology Indonesia*, 15(1), 21–26. <https://doi.org/10.5454/mi.15.1.4>
- Sarumpaet, M. I., & Wahyuni, D. D. (2021). Dermatophyte profile in patients with dermatophytosis in polyclinic dermatology and venerology of the general hospital Dr. Ferdinand Lumbantobing Sibolga in 2019. *Sumatera Medical Journal*, 4(2), 1–9. <https://doi.org/10.32734/sumej.v4i2.5602>
- Shah, S. R., Vyas, H. R., Shah, B. J., Jangid, N. C., Choudhary, A., Gehlawat, T., Mistry, D., & Joshi, R. (2023). A clinical-mycological study of dermatophytosis in Western India with focus on antifungal drug resistance as a factor in recalcitrance. *Indian Journal of Dermatology*, 68(2), 234–246. https://doi.org/10.4103/ijd.ijd_999_22
- Sharma, V., Kumawat, T. K., Sharma, Anima, Seth, Ruchi, & Chandra, S. (2015). Dermatophytes: diagnosis of dermatophytosis and its treatment. *African Journal of Microbiology Research*, 9(19), 1286–1293. <https://doi.org/10.5897/ajmr2015.7374>
- Sheam, M. M., Haque, Z., & Nain, Z. (2020). Towards the antimicrobial, therapeutic and invasive properties of *mikania micrantha* knuth: A brief overview. *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, 3(2), 92–101. <https://doi.org/10.5455/jabet.2020.d112>
- Sitepu, E. H., Muis, K., & Putra, I. B. (2018). Dermatophytes and bacterial superinfectives in tinea pedis patients at Haji Adam Malik Central Hospital, Medan-Indonesia. *Bali Medical Journal*, 7(2), 452–456. <https://doi.org/10.15562/bmj.v7i2.778>
- Sumantri, I. B., Wahyuni, H. S., & Mustanti, L. F. (2020). Total phenolic, total flavonoid and phytochemical screening by FTIR spectroscopic of standardized extract of *Mikania micrantha* leaf. *Pharmacognosy Journal*, 12(6), 1395–1401. <https://doi.org/10.5530/PJ.2020.12.193>
- Syafriana, V., Febriani, A., Suyatno, Nurfitri, & Hamida, F. (2021). Antimicrobial activity of ethanolic extract of sempur (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) leaves against pathogenic microorganisms. *Borneo Journal of Pharmacy*, 4(2), 2021. Diambil dari <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjop>
- Taghipour, S., Shamsizadeh, F., Pchelin, I. M., Rezaei-Matehkholaie, A., Mahmoudabadi, A. Z., Valadan, R., Ansari, S.,
- Katirae, F., Pakshir, K., Zomorodian, K. (2020). Emergence of terbinafine resistant *Trichophyton mentagrophytes* in Iran, harboring mutations in the squalene epoxidase (Sqle) gene. *Infection and Drug Resistance*, 13, 845–850. <https://doi.org/10.2147/IDR.S246025>
- Wijaya, H., Jubaidah, S., & Rukayyah. (2022). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan

sokhletasi terhadap rendemen ekstrak batang turi (*Sesbania grandiflora* L.). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 05(01), 1–11.

Zhang, C. W., Zhong, X. J., Zhao, Y. S., Rajoka, M. S. R., Hashmi, M. H., Zhai, P., & Song, X. (2023).

Antifungal natural products and their derivatives: A review of their activity and mechanism of actions. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 7(March). <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2023.100262>



Bakteriologi



Melda Yunita ■ Deasy Handayani Purba ■ Fathin Hamida
Vilya Syafriana ■ Liza Mutia ■ Nita Andriani Lubis
David Sopotra ■ Abbas Mahmud ■ Mazytha Kinanti Rachmania
Cory Linda Putri ■ Desy Muliana Wenas ■ Chandra Pranata
Arviani ■ Nancy Lidya Sampow

Bakteriologi



UU 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta

Tentang diperhaluskannya Pasal 4

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi

Pendataan Perihal Pasal 26

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 akan berlaku sebagai:

- penggunaan tujuan sebagian Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait untuk kepentingan pemenuhan akses yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi akses;
- Penggunaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan penelitian dan/atau pengajaran;
- Penggunaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan pengajaran, keolah ragaan dan/atau Program yang tidak dilakukan Pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- penggunaan untuk keperluan penelitian dan/atau pengembangan ilmu pengetahuan yang menggunakan suatu Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait dapat digunakan tanpa izin Pelaku Pertunjukan, Produser, Pemegang, atau Lembaga Pemegang.

Sanksi Pelanggaran Pasal 113

- Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf c, dan/atau huruf h atau Pengumuman Seseorang Komersial sebagaimana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah);
- Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf c, dan/atau huruf g atau Pengumuman Seseorang Komersial sebagaimana dengan pidana penjara paling lama 2 (dua) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah);

Bakteriologi

Melda Yunita, Deasy Handayani Purba, Fathin Hamida
Vilya Syafriana, Liza Mutia, Nita Andriani Lubis
David Soputra, Abbas Mahmud, Mazytha Kinanti Rachmania
Cory Linda Futri, Desy Muliana Wenas, Chandra Pranata
Arviani, Nancy Lidya Sampouw



Penerbit Yayasan Kita Menulis

Bakteriologi

Copyright © Yayasan Kita Menulis, 2023

Penulis:

Melda Yunita, Deasy Handayani Purba, Fathin Hamida
Vilya Syafriana, Liza Mutia, Nita Andriani Lubis
David Sopotra, Abbas Mahmud, Mazytha Kinanti Rachmania
Cory Linda Putri, Desy Muliana Wenas, Chandra Pranata
Arviani, Nancy Lidya Sampouw

Editor: Abdul Karim

Desain Sampul: Devy Dian Pratama, S.Kom.

Penerbit

Yayasan Kita Menulis

Web: kitamenulis.id

e-mail: press@kitamenulis.id

WA: 0821-6453-7176

IKAPI: 044/SUT/2021

Melda Yunita., dkk.

Bakteriologi

Yayasan Kita Menulis, 2023

xviii; 198 hlm; 16 x 23 cm

ISBN: 978-623-342-965-8

Cetakan 1, September 2023

- I. Bakteriologi
- II. Yayasan Kita Menulis

Katalog Dalam Terbitan

Hak cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak maupun mengedarkan buku tanpa
izin tertulis dari penerbit maupun penulis

Kata Pengantar

Puji syukur kami haturkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas izin-Nya, buku “Bakteriologi” dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Terima kasih juga kami ucapkan kepada semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian buku ini.

Mikroorganisme, khususnya bakteri, merupakan hal yang penting untuk dipelajari. Buku ini menyajikan berbagai topik mengenai bakteri, sehingga secara tidak langsung pembaca dapat memahami bagaimana karakteristik bakteri secara lengkap. Buku ini diharapkan dapat dijadikan sebagai referensi dalam upaya memahami bakteri sebagai model dan keterkaitannya dalam berbagai bidang mikrobiologi terapan yang terkait.

Buku Bakteriologi memuat beberapa bab penting sebagai berikut:

- Bab 1 Klasifikasi Bakteri
- Bab 2 Distribusi Dan Peran Bakteri
- Bab 3 Morfologi Bakteri
- Bab 4 Nutrisi Bakteri
- Bab 5 Pertumbuhan Dan Perkembangan Bakteri
- Bab 6 Metabolisme Bakteri
- Bab 7 Nutrisi Dan Kultivasi Bakteri
- Bab 8 Isolasi Dan Identifikasi Bakteri
- Bab 9 Karakterisasi Enterobacteriaceae
- Bab 10 Bakteri Kokus
- Bab 11 Bakteri Spiral
- Bab 12 Bakteri Penambat Nitrogen
- Bab 13 Bakteri Gram Negatif Dan Non Fermentative
- Bab 14 Bakteri Batang (Basil)

Kami menyadari bahwa buku ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu kami meminta maaf dengan tulus. Semoga kontribusi kita

dalam penyelesaian buku ini bernilai ibadah dan dapat memberikan manfaat yang luas pada berbagai pihak. Amiin.

Penulis

Daftar Isi

Kata Pengantar	v
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Tabel	xv

Bab 1 Klasifikasi Bakteri

1.1 Pendahuluan	1
1.1.1 Struktur Sel Prokariota	1
1.1.2 Konsep Spesies	3
1.1.3 Konsep Biovar (Biotipe Spesies/Strain).....	3
1.2 Sistem Klasifikasi	4
1.3 Macam Klasifikasi.....	5
1.3.1 Klasifikasi Sistem Alami.....	6
1.3.2 Klasifikasi Sistem Artifisial	6
1.3.3 Klasifikasi Sistem Filogenetik	6
1.4 Kelompok Bakteri	7
1.4.1 Eubakteria Gram Negatif Yang Memiliki Dinding Sel	8
1.4.2 Eubakteria Gram Positif Yang Memiliki Dinding Sel.....	9
1.4.3 Eubakteria Tanpa Memiliki Dinding Sel	9
1.4.4 Archaeobacteria	10

Bab 2 Distribusi Dan Peran Bakteri

2.1 Pendahuluan	13
2.2 Kelompok & Habitat Bakteri Air Tawar	14
2.2.1 Proteobakteri	14
2.2.2 Cyanobacteria	16
2.2.3 Actinobacteria	16
2.2.4 Bacteroidetes.....	17
2.2.5 Filum Air Tawar Lainnya	17
2.3 Variasi Temporal Dalam Bakteri	17
2.4 Variasi Spasial Dalam Bakteri.....	19
2.5 Peran Bakteri Dengan Organisme Lain	21
2.5.1 Predasi Oleh Protista	22
2.5.2 Predasi Oleh Cladocerans	22

2.5.3 Lisis Oleh Virus	23
2.5.4 Interaksi Dengan Fitoplankton	23
2.5.5 Interaksi Bakteri Di Sepanjang Gradien Produktivitas	24
Bab 3 Morfologi Bakteri	
3.1 Ukuran Dan Bentuk Sel Bakteri	25
3.2 Struktur Sel Bakteri	27
3.2.1 Struktur Internal Sel Bakteri	28
3.2.2 Struktur External Sel Bakteri	31
Bab 4 Nutrisi Bakteri	
4.1 Pendahuluan	37
4.2 Nutrien Dan Faktor Pertumbuhan (Growth Factor)	37
4.3. Kategori Nutrisi	41
4.4 Transportasi Nutrien	45
4.4.1 Tipe-Tipe Transpor Aktif	46
4.4.2 Transportasi Khusus: Translokasi Kelompok & Pengambilan Besi	48
Bab 5 Pertumbuhan Dan Perkembangan Bakteri	
5.1 Pendahuluan	51
5.2 Faktor Pertumbuhan Dan Perkembangan Bakteri	52
5.2.1 Fisik	52
5.2.2 Kimia	54
5.3 Fase Pertumbuhan Dan Perkembangan Bakteri	55
5.3.1 Fase Lag	55
5.3.2 Fase Tumbuh Dipercepat (Logaritme, Eksponensial, Logaritma Phase)	55
5.3.3 Fase Stationer	56
5.3.4 Fase Kematian	57
5.4 Media Pertumbuhan Dan Perkembangan Bakteri	57
5.4.1 Teknik Transfer Aseptis	57
5.4.2 Media Cair	58
5.4.3 Media Padat	59
5.5 Macam-Macam Metode Pengukuran Pertumbuhan Dan Perkembangan Bakteri	61
5.5.1 Plate Count/Viable Cell Count	61
5.5.2 Most Probable Number (Mpn)	61
5.5.3 Direct Microscopic Count	61

Bab 6 Metabolisme Bakteri

6.1 Pendahuluan.....	63
6.2 Jalur Metabolisme	64
6.2.1 Katabolisme	66
6.2.2 Anabolisme	67
6.3 Produksi Energi	67
6.4 Regulasi Metabolisme.....	69
6.4.1 Regulasi Aktivitas Enzim.....	70

Bab 7 Nutrisi Dan Kultivasi Bakteri

7.1 Pendahuluan.....	73
7.2 Kebutuhan Nutrisi Dan Oksigen Bakteri.....	74
7.3 Media Kultivasi Bakteri Berdasarkan Susunan Dan Kepadatannya	76
7.4 Tipe-Tipe Media Berdasarkan Fungsinya	77
7.5 Media Kultivasi Bakteri Berdasarkan Bahan Penyusun Dan Manfaatnya 78	
7.5.1 Media Nutrien Agar.....	78
7.5.2 Media Eosin Methylene Blue Agar (EMB).....	78
7.5.3 Media Blood Agar.....	79
7.5.4 Media Thioglycollate Broth.....	79
7.5.5 Media Mac Conkey Agar.....	80
7.5.6 Media Triple Sugar Iron Agar (TSIA).....	81
7.5.7 Media Kligler's Iron Agar Test (KIA).....	81
7.5.8 Media Simmons Citrate Agar (SCA).....	82
7.5.9 Media Urease Test, Rapid Urease Test (RUT)	82
7.5.10 Media Lysine Iron (LIA)	83
7.5.11 Media Methyl Red Vogues Proskaner.....	83
7.5.12 Media Indole Test.....	83
7.6 Kondisi Fisik Kultivasi Bakteri	84
7.7 Penyediaan Biakan Murni.....	85
7.8 Prosedur Pembiakan Bakteri	86

Bab 8 Isolasi Dan Identifikasi Bakteri

8.1 Pendahuluan.....	87
8.2 Isolasi Bakteri	88
8.2.1 Teknik Kultur Aseptik.....	88
8.2.2 Media Kultur	90
8.2.3 Peralatan Laboratorium Dan Teknik Kultur Isolasi Kultur Murni .	94
8.2.4 Metode Sterilisasi	95
8.2.5 Teknik Pemindahan Kultur.....	95

8.3 Identifikasi Bakteri	96
8.3.1 Pewarnaan	97
8.3.2 Karakteristik Morfologis	99
8.3.3 Uji Biokimia Dan Fisiologi	100
8.3.4 Karakteristik Fisiologis: Teroksidasi dan Fermentasi	100

Bab 9 Karakterisasi Enterobacteriaceae

9.1 Enterobacteriaceae	107
9.2 Taksonomi Enterobacteriaceae	108
9.3 Karakteristik Enterobacteriaceae	109
9.4 Metabolisme Fermentatif	111
9.5 Diferensiasi Genus Dan Spesies	112
9.5.1 Escherichia	113
9.5.2 Citrobacter	114
9.5.3 Edwardsiella	114
9.5.4 Enterobacter	115
9.5.5 Klebsiella	115
9.5.6 Serratia	117
9.6 Hubungan Genetik	117
9.7 Coliform	117
9.8 Penyakit Yang Ditimbulkan	119

Bab 10 Bakteri Kokus

10.1 Morfologi Mikroskopik	121
10.2 Bakteri Kokus Gram Negatif	122
10.2.1 Moraxella	122
10.2.2 Acinebacter	123
10.3 Bakteri Kokus Gram Positif	124
10.3.1 Mikrokokus	124
10.3.2 Stafilokokus	124
10.3.3 Streptokokus	127
10.3.4 Leuconostoc	128
10.4 Identifikasi Bakteri	128

Bab 11 Bakteri Spiral

11.1 Pendahuluan	131
11.2 Bakteri Spiral	132
11.3 Bakteri Genus Vibrio	133
11.4 Tryponema Pallidum	135

11.5 <i>Borrelia Burgdorferi</i>	136
11.6 <i>Leptospira Interogans</i>	138
11.7 <i>Helicobacter Pylori</i>	139
11.8 <i>Spirillum Minus</i>	141

Bab 12 Bakteri Penambat Nitrogen

12.1 Bakteri Penambat Nitrogen	143
12.2 Mikroba Pelarut Fosfat.....	147
12.3 Interaksi Antara Mikroba Penambat Nitrogen Dan Pelarut Fosfat.....	147
12.4 Campuran Bahan Organik Dan Batuan Fosfat Alam Sebagai Substrat Bagi Mikroorganisme	148

Bab 13 Bakteri Gram Negatif Dan Non Fermentative

13.1 Bakteri Gram Negatif.....	151
13.1.1 Karakteristik Bakteri Gram Negatif	151
13.1.2 Jenis-Jenis Bakteri Gram Negatif.....	152
13.2 Bakteri Non Fermentative	155
13.2.1 Karakteristik Bakteri Non Fermentative	156
13.2.2 Jenis-Jenis Bakteri Non Fermentative.....	156

Bab 14 Bakteri Batang (Basil)

14.1 Pengertian Bakteri Batang (Basil).....	159
14.2 Klasifikasi Bakteri Batang (Basil).....	159
14.2.1 Monobasil (<i>Monobacillus</i>).....	160
14.2.2 Diplobasil (<i>Diplobacillus</i>).....	161
14.2.3 Streptobasil (<i>Streptobacillus</i>).....	162
14.2.4 Kokobasil (<i>Coccobacillus</i>).....	163
14.3 Bakteri Batang Positif Gram.....	164
14.3.1 <i>Bacillaceae</i>	164
14.3.2 <i>Corynebacterium</i>	165
14.3.3 <i>Lactobacillus</i>	166
14.3.4 <i>Listeria</i> Dan <i>Erysipelothrix</i>	167
14.4 Bakteri Batang Negatif Gram.....	167
14.4.1 <i>Enterobacteriaceae</i>	167
14.4.2 <i>Eschericia</i>	168
14.4.3 <i>Shigella</i>	168
14.4.4 <i>Salmonella</i>	168
14.4.5 <i>Pseudomonadaceae</i>	169
14.4.6 <i>Haemophilus</i>	169

14.4.7 Bordetella	169
14.4.8 Brucella	169
Daftar Pustaka	171
Biodata Penulis	191

Daftar Gambar

Gambar 1.1:	Perbedaan sel prokariotik (atas) dan eukariotik (bawah).....	2
Gambar 1.2:	Bentuk sel yang umum pada Eubakteria, a) bulat, b) batang, c) spiral	8
Gambar 3.1:	Bentuk dan Ukuran Sel <i>Thiomargarita namibiensis</i>	25
Gambar 3.2:	Bentuk Dasar Bakteri. (a) kokus (b) basil (c) spiral (d) vibrio (e) filamen	26
Gambar 3.3:	Bentuk Klaster Bakteri. (a) streptokokus (b) streptobasil (c) kokobasil (d) stafilokokus (e) sarsina (f) spirillum	27
Gambar 3.4:	Contoh Spesies Bakteri dengan Bentuk yang Lain (a) <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , SEM (62,000x). (b) <i>Actinomyces</i> , SEM (21,000x). (c) <i>Treponema pallidum</i> . (d) <i>Spiroplasma</i> , SEM (13,000x). (e) <i>Gallionella ferruginea</i> dengan stalk. (f) <i>Hyphomicrobium</i> dengan hifa dan bud (tunas)	27
Gambar 3.5:	Anatomi Struktur Sel Bakteri	28
Gambar 3.6:	Nukleoid (berwarna gelap) berjumlah lebih dari 1 di dalam 1 sel yang sedang terjadi pembelahan setelah proses replikasi materi genetik.....	28
Gambar 3.7:	Fotomikrograf fase kontras menunjukkan lokasi endospora intraseluler yang berbeda pada spesies bakteri yang berbeda. Endospora tampak cerah dengan mikroskop fase kontras. (a) spora terminal (b) spora subterminal (c) spora sentral	30
Gambar 3.8:	Endospora pada <i>Bacillus subtilis</i>	30
Gambar 3.9:	Struktur Membran Sel Bakteri Phospholipid Bilayer	31
Gambar 3.10:	Hasil Reaksi Pewarnaan Gram Bakteri. (a) Reaksi Menghasilkan Warna Violet pada Bakteri Gram Positif. (b) Reaksi Menghasilkan Warna Merah Pada Bakteri Gram Negatif	32
Gambar 3.11:	Mikrograf Dinding Sel Bakteri Pada Mikroskop Elektron. (a, b) Tekstur Permukaan Dinding Sel Bakteri	

Gram Positif dan Gram Negatif (c, d) Susunan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.....	32
Gambar 3.12: Struktur Dinding Sel Mycobacterium.....	33
Gambar 3.13: Mikrograf kapsul pada sel bakteri pada mikroskop elektron.	34
Gambar 3.14: Mikrograf kapsul pada bakteri berbentuk batang. Kapsul ditunjukkan dengan lingkaran cahaya bening di sekitar sel bentuk batang	34
Gambar 3.15: Fimbria. (a) Perbedaan struktur fimbria, pili, dan flagel. (b) Fimbria sebagai alat perlekatan dan pembentukan kolonisasi bakteri E. coli pada permukaan mikrovili usus halus.....	35
Gambar 3.16: Mikrograf mikroskop elektron pada flagel bakteri. (a) monotrik (b) peritrik (c) amfitrik (d) lofotrik.....	35
Gambar 3.17: Proses konjugasi menggunakan pili seks pada dua sel bakteri Escherichia coli	36
Gambar 4.1: Sistem Transportasi Nutrien pada Bakteri	46
Gambar 4.2: Tiga Tipe Protein Transporter pada Membran Sel.....	47
Gambar 4.3: Dua Tipe Transpor Aktif.....	47
Gambar 4.4: Translokasi Kelompok melalui Sistem Fosfotransferase	48
Gambar 4.5: Siderofor dan pengambilan besi	49
Gambar 6.1: Metabolisme Bakteri (Bacterial Metabolism–Coupled Energetics - ScienceDirect).....	65
Gambar 6.2: Regulasi Aktivitas Enzim.....	71
Gambar 8.1: Teknik Streak Plate pada Media Plate Agar	89
Gambar 8.2: Media Agar Plate dan Agar Miring pada Tabung Reaksi	91
Gambar 8.3: Pertumbuhan mikroba dalam Media Manitol Salt Agar (MSA) dan media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)....	93
Gambar 8.4: Teknik Pemindahan Kultur	96
Gambar 8.5: Pewarnaan Struktur Bakteri	98
Gambar 8.6: Pewarnaan Gram).....	99
Gambar 8.7: Evaluasi dan Test	101
Gambar 8.8: Outline Pemisahan untuk Batang Gram-positif	101
Gambar 8.9: Outline Pemisahan untuk Spesies Bacillus terpilih.....	102
Gambar 8.10: Outline untuk spesies Mycobacterium.....	102
Gambar 8.11: Outline Pemisahan Kurthia, Listeria, and Lactobacillus genera	102
Gambar 8.12: Outline Pemisahan Gram-positive cocci.....	103
Gambar 8.13: Outline Pemisahan Spesies Staphylococcus.....	103

Gambar 8.14: Outline pemisahan Gram-negative rods and cocci.....	104
Gambar 8.15: Outline Pemisahan Citrobacter, Enterobacter, Salmonella, Providencia, Escherichia, Proteus, and Morganell	104
Gambar 8.16: Outline Pemisahan untuk Spesies Enterobacter	104
Gambar 8.17: Outline Pemisahan untuk Spesies Escherichia.....	105
Gambar 8.18: Outline Pemisahan untuk Spesies Klebsiella dan Shigella...	105
Gambar 10.1: Macam-macam bentuk Monokokus, Diplokokus, Stafilokokus, Streptokokus, sarkina, dan Tetrakokus	122
Gambar 10.2: Identifikasi Bakteri	129
Gambar 11.1: Bentuk bakteri spiral yaitu vibrio, spirillum, spirochaeta	132
Gambar 11.2: Bakteri Vibrio parahaemolyticus.....	133
Gambar 11.3: Bentuk Treponema pallidum dengan membran sitoplasma dan membran luar	135
Gambar 11.4: Mekanisme antibiotik untuk penyakit Lyme.....	137
Gambar 11.5: Leptospira interrogans	138
Gambar 11.6: Peranan Helicobacteri pylori terhadap mikrobiota lambung.	140
Gambar 13.1: Mekanisme Infeksi Burkholderia spp	158
Gambar 14.1: Bakteri Monobasil	160
Gambar 14.2: Contoh Bakteri Monobasil: Escherichia Coli.....	160
Gambar 14.3: Bakteri Diplobasil.....	161
Gambar 14.4: Contoh Bakteri Diplobasil: Salmonella Thyposa.....	161
Gambar 14.5: Bakteri Streptobasil	162
Gambar 14.6: Contoh Bakteri Streptobasil: Bacillus Anthracis	162
Gambar 14.7: Bakteri Kokobasil.....	163
Gambar 14.8: Contoh Bakteri Kokobasil: Haemophilus Influenzae	163

Daftar Tabel

Tabel 3.1: Perbandingan Ukuran Sel Bakteri	26
Tabel 4.1: Elemen yang ditemukan pada Mahluk Hidup	39
Tabel 4.2: Beberapa Faktor Pertumbuhan	41
Tabel 4.3: Kategorisasi Beberapa Bakteri Berdasarkan Sumber Energi, Sumber Elektron, dan Sumber Karbon	42
Tabel 6.1: Pengelompokan Bakteri Menurut Produk Katabolisme Glukosa ..	66
Tabel 9.1: Uji Biokimia dari beberapa Anggota Enterobacteriaceae.....	112
Tabel 9.2: Karakter-karakter pembeda utama pada sebagian genus dari Family Enterobacteriaceae	112
Tabel 9.3: Reaksi biokimia yang dapat membedakan spesies Klebsiella.....	115

Bab 1

Klasifikasi Bakteri

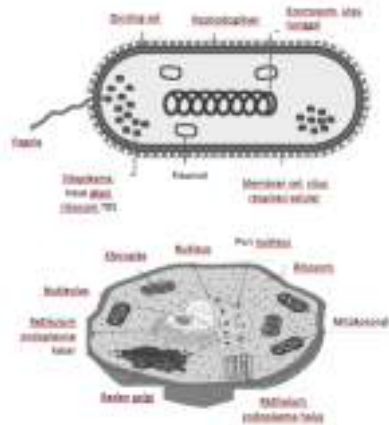
1.1 Pendahuluan

Mikroorganisme merupakan kelompok heterogen dari beberapa kelas makhluk hidup yang berbeda. Berdasarkan perbedaan organisasi seluler dan biokimia, kingdom protista dibagi menjadi dua kelompok yaitu prokariota dan eukariota. Bakteri dan alga hijau-biru termasuk dalam kelompok prokariota, sedangkan jamur dan yeast, alga lainnya, serta protozoa termasuk dalam kelompok eukariota. Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik yang tidak mengandung klorofil. Mereka bersifat uniseluler dan tidak menunjukkan perbedaan yang mencolok, kecuali pada bakteri tingkat tinggi seperti yang berasal dari kelompok actinomycetales (Mahdavinia & Schleimer, 2022).

1.1.1 Struktur Sel Prokariota

Sel prokariotik mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: Tidak memiliki organel sehingga semua aktivitas sel terjadi di sitosol atau membran sitoplasma. Sebagian besar bakteri memiliki peptidoglikan, yaitu suatu polimer khas yang membuat sintesisnya menjadi target yang baik bagi antibiotik. Sintesis protein terjadi di sitosol dengan ribosom yang berbeda secara struktural. Selain itu, prokariota dibedakan dari eukariota berdasarkan ukurannya yang lebih kecil (0,2-10 μ m), adanya dinding sel dan pembelahan sel melalui pembelahan biner,

bukan mitosis seperti pada kebanyakan organisme eukariotik. Mereka umumnya juga tidak memiliki intron, tidak mampu melakukan endo/eksositosis, dan memiliki DNA sirkular beruntai tunggal (Al-Kobaisi, 2007). Agar lebih mudah dalam memahaminya, perbedaan struktur sel prokariotik dan eukariotik diilustrasikan pada gambar di bawah ini.



Gambar 1.1: Perbedaan Sel Prokariotik (atas) dan Eukariotik (bawah)(Al-Kobaisi, 2007).

Bakteri merupakan organisme bersel-tunggal yang bereproduksi dengan cara sederhana, yaitu dengan pembelahan biner. Sebagian besar hidup bebas dan mengandung informasi genetik dan memiliki sistem biosintetik dan penghasil – energi yang penting untuk pertumbuhan dan reproduksinya. Sejumlah bakteri, bersifat parasit intraseluler obligat contohnya *Chlamydiae* dan *Rickettsiae*. Dalam beberapa hal, bakteri berbeda dari eukariot. Bakteri tidak memiliki ribosom 80S maupun organel bermembran, seperti nukleus, mitokondria, lisosom, retikulum endoplasma maupun badan golgi, bakteri tidak memiliki flagela fibril 9+2 atau struktur silia seperti pada sel eukariot. Bakteri memiliki ribosom 70S dan kromosom sirkuler tunggal (nukleoid) tanpa sampul yang disusun oleh asam deoksiribonukleat untai-ganda (DNA) yang bereplikasi secara amitosis. Jika terjadi pergerakan, hal itu sering disebabkan adanya struktur flagela filamen-tunggal. Sejumlah bakteri memiliki mikrofibril eksternal (pili atau fimbria) yang berfungsi untuk menempel (Young, 2007).

1.1.2 Konsep Spesies

Spesies bakteri didefinisikan secara deskriptif (fenotipik). Setiap macam bakteri dianggap sebagai suatu spesies, yang dibentuk dari kumpulan strain yang memberikan beberapa gambaran sangat berbeda dari strain lain. Suatu strain merupakan merupakan progeni atau subkultur dari isolat koloni tunggal dalam kultur murni. Spesies bakteri didefinisikan melalui (1) sifat struktural dari bentuk, ukuran, cara pergerakan, tahap istirahat, reaksi pewarnaan Gram, dan pertumbuhan secara makroskopik, (2) sifat nutrisi dan biokimia, produk akhir dan informasi biokimia lain pada metabolit dan komponen seluler, (3) sifat fisiologi relatif terhadap oksigen, temperatur, pH, dan respon terhadap zat antibakteri, (4) sifat ekologi dan komposisi basa DNA, homologi, dan sifat genetic (Lowy, 1884).

1.1.3 Konsep Biovar (Biotipe Spesies/Strain)

Kumpulan spesies bakteri terdiri dari strain-strain yang saling berhubungan tetapi berbeda organisme, kadang-kadang disebut sebagai “cluster”. Dalam setiap kumpulan spesies atau “cluster”, suatu strain dipilih secara acak untuk menjadi wakil terbaik dari spesies tersebut. Strain ini disebut biotipe (atau biovar) dari spesies, dan sesudah itu sifatnya digunakan untuk menggambarkan spesies tersebut. Strain biotipe digunakan sebagai “strain referensi”, tersedia pada koleksi kultur seperti “The American Type Culture Collection” (ATCC), Rockville, Maryland, USA. Strain biotipe tidak memperlihatkan semua sifat strain dalam kumpulan spesies. Oleh karena itu, penandaan subspecies, seperti serotipe (serovar), patotipe (patovar), morfotipe (morfovar), atau tipe faga (fagovar) kadang-kadang digunakan untuk menunjukkan sifat tertentu dari variasi strain. Pada bakteri, tidak adanya kriteria gabungan definitif untuk penandaan spesies dapat difahami akibat variasi pada tingkat di mana kelompok dipisahkan, bergantung pada gambaran peneliti, sebagai kolektor dan pemisah. Menurut kategori pemisah yang menandai setiap serotipe (serovar) *Salmonella* sebagai suatu spesies dengan nama yang dimilikinya. Di pihak lain, pengumpul menandai serotipe individu sebagai jumlah tipe dalam spesies tunggal, contohnya, *Klebsiella* atau *Streptococcus* (Al-Kobaisi, 2007).

1.2 Sistem Klasifikasi

Klasifikasi bakteri memiliki berbagai fungsi yang berbeda. Karena keragaman ini, bakteri dapat dikelompokkan menggunakan banyak skema penulisan yang berbeda. Ciri penting dari semua sistem klasifikasi ini adalah suatu organisme yang diidentifikasi oleh satu individu, misalnya ilmuwan, dokter, ahli epidemiologi, dikenali sebagai organisme yang sama oleh individu lain. Saat ini skema penulisan yang digunakan oleh dokter dan ahli mikrobiologi klinis bergantung pada skema pengetikan fenotipik. Skema ini memanfaatkan karakter morfologi bakteri dan hasil pewarnaan mikroorganisme, serta kebutuhan pertumbuhan terhadap O₂ dari spesies yang dikombinasikan dengan berbagai uji biokimia. Bagi para dokter, reservoir lingkungan organisme, vektor dan cara penularan patogen juga sangat penting (Mahdavinia & Schleimer, 2022).

Para ilmuwan yang tertarik pada evolusi mikroorganisme lebih tertarik pada teknik taksonomi yang memungkinkan perbandingan gen yang sangat terjaga di antara spesies yang berbeda. Akibatnya, pohon filogenetika yang menampilkan tingkat keterkaitan berbagai organisme dapat dikembangkan. Penerapan teknologi yang relatif baru ini terletak pada pengenalan dan karakterisasi patogen yang tidak dapat dikultur serta penyakit yang dapat ditimbulkannya (Durand et al., 2015).

Dalam melakukan suatu klasifikasi mikroorganisme, sangat penting untuk mengetahui lebih dulu mengenai karakteristik dan ciri-ciri mikroorganisme. Kultur yang hanya mengandung satu macam mikroorganisme disebut sebagai kultur murni (pure culture). Kumpulan dari spesies yang sama disebut genus. Suatu mikroorganisme harus diklasifikasi terlebih dulu sebelum diidentifikasi, setelah diklasifikasi selanjutnya dicari beberapa sifat yang mencirikan mikroorganisme tersebut sehingga mudah diidentifikasi. Bakteriologi menggunakan beberapa teknik dalam klasifikasi bakteri. Morfologi (bentuk luar) adalah cara yang paling sederhana untuk mengetahui kesamaan atau perbedaan bentuk antara bakteri satu dengan bakteri lainnya, misalnya bentuk sel batang, kokus, spiral atau lengkung. Walaupun begitu, bentuk tidak selalu merupakan karakteristik eksklusif atau satu-satunya penanda dan bakteri yang dikelompokkan dalam klasifikasi yang berbeda dapat pula memiliki bentuk yang sama (Young, 2007).

Ciri morfologi lainnya, seperti ukuran, dapat bervariasi secara signifikan dari spesies yang satu dengan spesies yang lainnya. Kelompok yang khas dari bakteri juga membantu dalam klasifikasi. Banyak spesies bakteri yang cenderung membentuk kelompok sel individu yang dapat sangat bervariasi jumlahnya. Adanya struktur eksternal, seperti konstruksi, yaitu flagella juga dapat membantu membedakan spesies bakteri. Kunci lain dalam klasifikasi bakteri adalah tes dengan menggunakan pewarnaan Gram. Tes ini mengkuantifikasi bakteri sesuai dengan ketebalan membran luar (dinding sel) bakteri, di mana bakteri Gram negatif memiliki membran luar (dinding sel) yang tipis sedangkan bakteri Gram positif memiliki membran luar (dinding sel) tebal. Faktor-faktor seperti metabolisme dan perbedaan sifat biokimia lainnya merupakan alat lain untuk membantu klasifikasi bakteri. Bakteri memetabolisme berbagai senyawa yang berbeda dan senyawa tertentu yang dikonversi atau digunakan oleh bakteri tertentu dapat membantu dalam klasifikasi dan identifikasi. Kemajuan dalam teknik analisis molekuler telah memungkinkan bakteriologi dalam membedakan bakteri menurut perbedaan RNA serta sekuen gen tertentu. Analisis lebih lanjut mengenai jumlah total RNA individu, protein DNA dan rasio kehadiran bakteri, memberikan cara lain untuk klasifikasi. Menggunakan beberapa ataupun semua teknik dan karakteristik yang diamati, bakteriologi mampu mengklasifikasikan bakteri sesuai dengan spesies dan kelompok spesies yang sama (Hucker & Conn, 1923).

Klasifikasi bakteri dilakukan berdasarkan: (1) persamaan; (2) perbedaan; (3) manfaat; (4) ciri morfologi dan anatomi; (5) ciri biokimia (Al-Kobaisi, 2007).

1.3 Macam Klasifikasi

Sistem klasifikasi makhluk hidup telah dikenal sejak zaman dulu. Seperti yang telah disinggung sebelumnya, ahli filosof Yunani, Aristoteles (384-322 SM) mengelompokkan makhluk hidup ke dalam dua kelompok besar, yaitu kelompok hewan dan kelompok tumbuhan, namun keberadaan organisme mikroskopis belum dikenal pada saat itu. Sistem klasifikasi makhluk hidup terus mengalami kemajuan seiring berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi. Sistem klasifikasi makhluk hidup dikelompokkan dalam satuan-satuan kelompok besar yang disebut kingdom. Sistem kingdom yang pertama dikenalkan oleh Linneaus. Sistem kingdom pun terus mengalami perubahan

dan perbaikan hingga sekarang dan sering menjadi pro dan kontra bagi para ilmuwan (Lowy, 1884).

Klasifikasi dapat terbagi atas beberapa macam, diantaranya adalah: (1) Klasifikasi sistem alami, klasifikasi sistem artifisial, dan sistem klasifikasi filogenetika (Akbar et al., 2022; Lowy, 1884).

1.3.1 Klasifikasi Sistem Alami

Klasifikasi sistem alami dirintis oleh Michael Adams dan Jean Baptiste de Lamarck. Sistem ini menghendaki terbentuknya kelompok-kelompok takson yang alami. Artinya, anggota-anggota yang membentuk unit takson terjadi secara alamiah atau sewajarnya seperti yang dikehendaki oleh alam. Klasifikasi sistem alami menggunakan dasar persamaan dan perbedaan morfologi (bentuk luar tubuh) secara alami atau wajar. Contoh: bakteri berbentuk basil (batang), bakteri kokus (bulat), bakteri spiral (melengkung) (Akbar et al., 2022; Lowy, 1884).

1.3.2 Klasifikasi Sistem Artifisial

Klasifikasi sistem artifisial (buatan) merupakan klasifikasi yang menggunakan satu atau dua ciri pada makhluk hidup. Sistem ini disusun dengan menggunakan ciri-ciri atau sifat-sifat yang sesuai dengan kehendak manusia atau sifat lainnya. Misalnya, klasifikasi bakteri berdasarkan morfologi, klasifikasi bakteri berdasarkan sifatnya terhadap pewarnaan Gram, dan klasifikasi bakteri berdasarkan sifat biokimiawinya. Tokoh yang mengemukakan sistem artifisial ini antara lain Aristoteles yang membagi makhluk hidup menjadi dua kelompok, yaitu tumbuhan (*plantae*) dan hewan (*animalia*). Tokoh lainnya adalah Carolus Linneaus yang mengelompokkan tumbuhan berdasarkan alat reproduksinya (Akbar et al., 2022; Sklavounos et al., 2021).

1.3.3 Klasifikasi Sistem Filogenetik

Klasifikasi sistem filogenetik muncul setelah teori evolusi dikemukakan oleh para ahli biologi. Pertama kali dikemukakan oleh Charles Darwin pada tahun 1859. Menurut Darwin, terdapat hubungan antara sistem klasifikasi dengan evolusi. Sistem filogenetika disusun berdasarkan jauh atau dekatnya kekerabatan antara takson yang satu dengan takson yang lain. Selain mencerminkan persamaan dan perbedaan, sistem klasifikasi ini juga

mencerminkan sifat morfologi, anatomi, dan sifat fisiologisnya. Sistem ini juga menjelaskan mengapa semua makhluk hidup memiliki kesamaan molekul dan biokimia, tetapi dapat memiliki bentuk, susunan, dan fungsi yang berbeda-beda pada setiap makhluk hidup (Akbar et al., 2022).

Jadi pada dasarnya, klasifikasi filogenetika disusun menurut persamaan fenotip yang mengacu pada sifat-sifat morfologi (bentuk luar), faal, tingkah laku yang dapat diamati dan pewarisan keturunan yang mengacu pada hubungan evolusioner yang diwariskan nenek moyang pada keturunan-keturunannya (Al-Kobaisi, 2007).

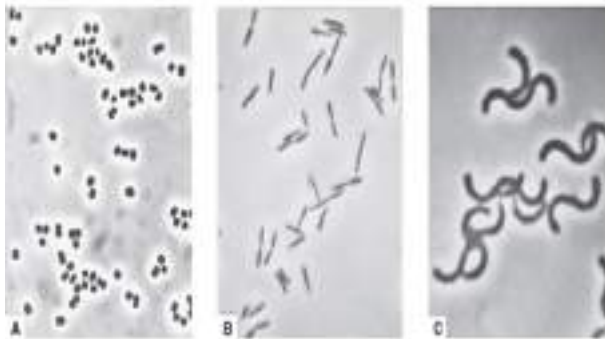
Sistem Dua Kingdom pada awalnya dikembangkan oleh ilmuwan Swedia, Carolus Linnaeus tahun 1735. Sistem ini terbagi atas Kingdom Animalia (Dunia Hewan), dan Kingdom Plantae (Dunia Tumbuhan). Selanjutnya, sistem klasifikasi berkembang menjadi Sistem Tiga kingdom. Sistem ini dikembangkan oleh ahli Biologi Jerman Ernst Haeckel pada tahun 1866. Sistem ini diperbaharui dengan menambahkan Kingdom Protista (Dunia organisme bersel satu dan organisme multiseluler sederhana). Perkembangan sistem klasifikasi terus berlanjut hingga Sistem Empat Kingdom. Sistem ini dikembangkan oleh Ahli Biologi, Amerika Herbert Copeland, pada tahun 1956, dengan menambahkan Kingdom Monera. Sistem klasifikasi terus berkembang menjadi Sistem Lima Kingdom. Sistem ini dikembangkan oleh ahli Biologi Amerika, Robert H. Whittaker, pada tahun 1969 dengan menambahkan Kingdom fungi pada daftarnya (Mahdavinia & Schleimer, 2022).

1.4 Kelompok Bakteri

Bergey dalam bukunya, *Bergey's Manual determinative of Bacteriology*, membagi bakteri menjadi empat kelompok utama berdasarkan karakter fenotipik dengan daftar sifat-sifat yang sering digunakan untuk membedakan beberapa dari kelompok tersebut, diantaranya ialah Eubacteria Gram negative yang memiliki dinding sel, Bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel, Bakteri tanpa dinding sel, dan kelompok Archaeobacteria (Lowy, 1884).

1.4.1 Eubakteria Gram Negatif yang Memiliki Dinding Sel

Kelompok bakteri ini merupakan prokariot yang memiliki suatu profil dinding sel yang khas dan kompleks yang memiliki dua membra, yaitu satu membran luar dan satu membran dalam, lapisan peptidoglikan yang tipis pada dinding selnya dengan peptidoglikan tersusun atas asam muramat. Kelompok bakteri Gram negatif biasanya memiliki sel berbentuk bulat, oval, batang lurus atau melengkung, spiral, atau berfilamen; beberapa bentuk tersebut dapat berselubung atau berkapsul (Young, 2007). Bentuk sel bakteri dapat diilustrasikan pada Gambar 1.2.



Gambar 1.2: Bentuk Sel yang umum pada Eubakteria, a) bulat, b) batang, c) spiral ((Young, 2007).

Kelompok Eubakteria Gram negatif dapat dibedakan dengan kelompok lainnya dengan melakukan pewarnaan Gram, di mana sel akan terlihat berwarna merah muda. Reproduksi dilakukan dengan cara pembelahan biner tetapi beberapa kelompok terlihat membentuk tunas, dan suatu kelompok jarang memperlihatkan pembelahan multipel. Fruiting body (kumpulan sel dan lendir) dan miksospora dapat dibentuk oleh Mikobakteria. Gerakan berenang, meluncur, dan gerak tanpa berpindah tempat biasanya dapat diamati di bawah mikroskop. Beberapa kelompok bakteri bersifat fototropik atau non-fototropik (diantara kelompok autotropik dan heterotropik), dan termasuk aerobik, fakultatif anaerobik, dan spesies mikroaerofilik; beberapa anggota merupakan parasit intraseluler obligat. Beberapa contoh bakteri yang dikenal sebagai bakteri gram negatif adalah *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Shigella* sp (Lowy, 1884; Sklavounos et al., 2021).

1.4.2 Eubakteria Gram Positif yang Memiliki Dinding Sel

Kelompok ini merupakan organisme prokariot uniselular dengan profil dinding sel tipe Gram positif yang memiliki dinding sel (peptidoglikan) yang tebal dan hanya memiliki satu membrane dalam saja tanpa membrane luar. Jika dilihat dengan pewarnaan Gram, sel bakteri akan terlihat berwarna ungu. Sel dapat berbentuk bulat, batang, atau filamen; batang dan filamen mungkin tidak bercabang, tetapi beberapa memperlihatkan adanya percabangan. Reproduksi seluler umumnya dengan pembelahan biner; beberapa menghasilkan spora sebagai bentuk istirahat (resting phase) yang disebut sebagai endospora. Kelompok ini umumnya tidak berfotosintesis, melakukan kemosintesis, heterotrof dan termasuk aerobik, anaerobik, fakultatif anaerobik, dan spesies mikroaerofilik. Anggota divisi ini termasuk bakteri asporogenous sederhana dan bakteri sporogenous, dan beberapa actinomycetes. Beberapa contoh bakteri Gram positif ialah *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Bacillus* sp (Erkmen, 2021).

1.4.3 Eubakteria Tanpa Memiliki Dinding Sel

Kelompok ini merupakan prokariot uniseluler yang tidak memiliki dinding sel. Umumnya, kelompok ini disebut *Mycoplasma* dan termasuk kelas Mollicutes. Kelompok bakteri ini tidak mensintesis bahan baku (prekursor) pembentuk peptidoglikan yang menjadi penyusun utama dinding sel pada kebanyakan kelompok eubacteria lainnya. Sel dilindungi oleh suatu unit membrane, yaitu membrane plasma. Sel sangat pleomorfik, dengan ukuran bervariasi mulai dari besar hingga kecil mampu merusak vesikula sampai ke bagian yang sangat kecil (0.2 μ m), elemen lainnya yang dapat tersaring. Bentuk filamen biasa ditemukan dengan penonjolan-penonjolan percabangan. Reproduksi dapat dengan pertunasan (budding), fragmentasi, dan/atau pembelahan biner. Beberapa kelompok memperlihatkan suatu derajat keteraturan bentuk yang semestinya terhadap penempatan struktur internal. Biasanya tidak bergerak, tetapi beberapa spesies memperlihatkan suatu pergerakan meluncur. Bentuk istirahat (resting phase) tidak diketahui dengan jelas. Bila diwarnai dengan pewarnaan Gram, sel terlihat berwarna pink (Gram negative). Sebagian besar bakteri dari kelompok ini membutuhkan media yang kompleks untuk pertumbuhannya dengan tekanan-osmotik-tinggi yang mengelilinginya dan mempertahankan diri dengan menembus permukaan media padat dengan cara membentuk sifat khusus koloni berupa "Fried egg" atau juga disebut koloni telur mata sapi (Hucker & Conn, 1923).

Sebagian besar spesies selanjutnya dibedakan oleh kebutuhan akan kolesterol dan asam lemak rantai-panjang untuk pertumbuhannya; kolesterol tak teresterifikasi merupakan komponen khusus pada membran di antara spesies yang membutuhkan dan tidak membutuhkan sterol, jika terdapat dalam medium. Kandungan guanin dan sitosin dalam RNA ribosom adalah 43-48 mol% (lebih rendah dari yang terkandung dalam dinding eubakteria Gram negatif dan Gram-positif, 50-54 mol%); kandungan guanin dan sitosin pada DNA juga lebih rendah, 23-46 mol%, dan ukuran genom *Mycoplasma* lebih kecil dari prokariot lain, yaitu $0.5-1.0 \times 10^9$ Dalton. *Mycoplasma* dapat bersifat saprofit, parasit, atau patogenik, dan patogen penyebab penyakit pada hewan, tumbuhan, dan kultur jaringan (Al-Kobaisi, 2007).

1.4.4 Archaeobacteria

Archaeobacteria merupakan mikroba utama dalam lingkungan terrestrial dan akuatik yang relatif lebih ekstrim, hidup dalam lingkungan anaerobik, mampu hidup pada lingkungan dengan kadar garam tinggi, air panas, dan dalam lingkungan yang terkena panas bumi; serta beberapa spesies dapat berperan sebagai simbion saluran pencernaan hewan. Kelompok yang termasuk aerob, anaerob, dan fakultatif aerob yang tumbuh secara kemolitotrofik atau organotrofik.

Archaeobacteria dapat bersifat mesofil atau termofil, bahkan beberapa spesies dapat tumbuh pada suhu di atas 100 derajat. Suatu gambaran khusus biokimia dari archaeobacteria yaitu selnya mengandung gliserol isopranil ether lipid. Tidak ada murein (asam muramat terkandung dalam peptidoglikan) pada dinding sel membuat archaeobacteria tidak sensitif terhadap antibiotik beta-laktam. "Common arm" (berhubungan dengan lengan) tRNA mengandung pseudouridin atau 1-metilpseudouridin sebagai pengganti ribotimidin. Urutan rRNA 5S, 16S, dan 23S sangat berbeda dari yang ada dalam eubakteria dan eukariot. Archaeobacteria menunjukkan beberapa gambaran molekuler seperti pada eukariot, seperti elongation Factor 2 (EF-2) mengandung asam amino diftamid dan oleh karena itu dapat terjadi ribosilasi-ADP oleh toksin diphteria; urutan asam amino protein "A" ribosom menunjukkan urutan yang bersifat homolog dengan protein eukariotik (L7/L12); metionin yang mengawali tRNA tidak mengandung formil, d). Beberapa gen tRNA mengandung intron; cabang aminoasil tRNA inisiator diakhiri dengan pasangan basa "AU"; RNA polimerase merupakan enzim multikomponen dan tidak sensitif terhadap antibiotika rifampisin dan streptolidigin; seperti (DNA polimerase pada

eukariot, replikasi DNA polymerase pada archaebakteria tidak dihambat oleh aphidikolin atau butilfenil-d GTP; dan sintesis protein dihambat oleh anisomisin tetapi tidak oleh kloramfenikol (Sklavounos et al., 2021).

Archaebakteria autotrof tidak mengasimilasi CO₂ melalui siklus Calvin. Pada *Methanobacterium*, CO₂ difiksasi melalui suatu jalur asetil-CoA, tetapi *Acidianus* dan *Thermoproteus*, bersifat autotrof CO₂ difiksasi melalui jalur asam trikarboksilat reduktif. Fiksasi N₂ hanya diperlihatkan oleh beberapa methanogen. Hasil pewarnaan Gram dapat positif atau negatif karena tipe pembungkus sel sangat berbeda. Spesies Gram-positif memiliki pseudomurein, metanokondroitin, dan heteropolisakarida dinding sel; sel Gram-negatif memiliki glikoprotein pada lapisan permukaan. Sel memiliki keragaman bentuk, termasuk berbentuk bola, spiral, pelat atau bentuk batang; unisel; multisel bentuk dalam filamen atau mengelompok (Young, 2007).

Bab 2

Distribusi dan Peran Bakteri

2.1 Pendahuluan

Kehidupan mikroskopis mendominasi banyak ekosistem dalam hal biomassa. Di banyak ekosistem akuatik, sebagian besar produksi energi dan sebagian besar transformasi material dilakukan oleh mikroorganisme. Di antara mikroba akuatik, bakteri adalah pemain kunci dalam penyerapan senyawa anorganik dan remineralisasi dan pembuangan bahan organik. Sejumlah besar energi dan materi dalam sistem akuatik melewati komunitas bakteri, dan produksi sekunder bakteri dalam beberapa sistem dapat menyaingi produksi primer. Pemahaman tentang ekologi bakteri pada tingkat ekosistem umumnya telah dicapai dengan melihat komunitas bakteri dari perspektif 'kotak hitam', dengan mengasumsikan peran tunggal atau respons yang koheren dari beragam kumpulan bakteri yang ada pada waktu dan tempat tertentu.

2.2 Kelompok & Habitat Bakteri Air Tawar

Belum lama ini, teknik budidaya mikrobiologi tradisional tradisional menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang jelas antara bakteri yang ditemukan di tanah dan yang ditemukan di habitat akuatik, tetapi kita sekarang tahu bahwa ini tidak terjadi kasus. Survei terhadap urutan gen 16S ribosomal RNA dari habitat air tawar memberikan bukti adanya kumpulan bakteri air tawar yang berbeda dengan komunitas darat.

Banyak dari clade air tawar tampaknya memiliki distribusi geografis yang luas. Hal ini menunjukkan bahwa habitat air tawar, meskipun habitat air tawar, meskipun terisolasi secara geografis, menyimpan spesies bakteri yang diambil dari kumpulan koloni potensial yang sangat konsisten, dan ini mungkin merupakan karakteristik umum biologi air tawar.

Banyak filum utama bakteri dapat ditemukan di keduanya lingkungan laut dan air tawar, tetapi taksa yang mendominasi komunitas laut dan lakustrin berbeda. Transisi antara air tawar dan laut di muara terjadi secara tiba-tiba pada tingkat kekeruhan maksimum di mana air tawar dan air asin bertemu, dan tampaknya merupakan hasil dari seleksi lingkungan yang aktif daripada pencampuran air yang pasif.

Berikut ini adalah gambaran singkat tentang bakteri taksa yang terdiri dari kelompok-kelompok utama air tawar. Beberapa dari kelompok ini adalah taksa khusus air tawar, sedangkan yang lain beradaptasi dengan berbagai habitat. Nomenklatur bakteri terus berubah berubah karena tingkat penemuan taksa baru yang tinggi.

Karena beberapa clade ini hanya diketahui melalui sekuens DNA lingkungan, mereka belum telah dijelaskan dengan benar, dan ini ditunjuk dengan string alfanumerik, bukan dengan nama yang tepat. Di sepanjang bab ini, penamaan yang paling baru terbaru diikuti, dengan nama-nama alternatif untuk filum ditunjukkan dalam tanda kurung.

2.2.1 Proteobakteri

Bakteri ungu, atau Proteobacteria, sering kali merupakan prokariota dominan dalam sistem perairan. Garis keturunan Proteobacteria mengandung fototrof, kemolitotrof, dan kemoorganotrof, dan anggotanya dapat ditemukan di

lingkungan oksik dan anoksik. Ini filum ini terdiri dari beberapa subdivisi yang berbeda secara evolusioner. Alphaproteobacteria dapat ditemukan di banyak tempat lingkungan, termasuk kolom air dan sedimen air tawar dan sistem laut, dan mereka lebih mendominasi sistem laut daripada air tawar. Di danau, mereka juga telah ditemukan dalam partikel yang terkait komunitas.

Ada lima kelompok Alphaproteobacteria dengan perwakilan air tawar: LD12 (sebelumnya alpha V; klaster ini terkait erat dengan gugus SAR11 laut yang ada di mana-mana), *Brevundimonas intermedia* (sebelumnya alpha II), CR-FL11, *Novosphingobium subarctica* (sebelumnya alpha IV), dan GOBB3-C201. Gammaproteobacteria, seperti Alphaproteobacteria, juga ditemukan di berbagai habitat akuatik tetapi umumnya lebih dominan di komunitas laut. Organisme ini mungkin bersifat koptotrof, beradaptasi dengan kehidupan di bawah kondisi nutrisi tinggi, dan ini bisa menjelaskan representasi yang tidak proporsional dalam studi berbasis budidaya. Ada satu kelompok air tawar yang saat ini didefinisikan untuk subdivisi ini, *Methylobacter psychrophilus* (sebelumnya gamma1).

Betaproteobacteria telah ditemukan sebagai anggota yang paling dominan dari komunitas bakteri air tawar dalam sejumlah penelitian, dan beberapa kelompok tampaknya memiliki distribusi yang luas di danau-danau di seluruh dunia. Penonjolan di air tawar ini sangat kontras dengan ketiadaan mereka di perairan laut. Sampai saat ini, perwakilan laut dari Beta proteobacteria hanya ditemukan di perairan pesisir, tetapi sekuens Betaproteobacteria baru-baru ini ditemukan dari Laut Sargasso, di mana mereka merupakan bagian kecil dari komunitas.

Enam kelompok Betaproteobacteria air tawar telah diidentifikasi: *Polynucleobacter necessarius* (sebelumnya betaII), LD28 (sebelumnya betaIV), GKS98 (sebelumnya betaIII), *Ralstonia pickettii*, *Rhodospirillum rubrum* sp. BAL47 (sebelumnya betaI), dan GKS16 (sebelumnya betaI). Kelompok *P. necessarius* tampaknya sangat kosmopolitan di ekosistem air tawar. Betaproteobacteria ini adalah salah satu taksa air tawar yang paling sering terdeteksi, dan isolat dari klaster ini telah ditemukan dari habitat air tawar dari berbagai zona iklim. Dalam beberapa sistem, hingga 60% dari bakteri plankton dapat berafiliasi dengan klaster *P. necessarius*. Cluster *P. necessarius* ini tampaknya terbatas pada lingkungan air tawar pelagis, dan sampai saat ini, mereka belum terdeteksi di sedimen air tawar atau sistem laut atau tanah.

Organisme dari subdivisi Deltaproteobacteria umumnya terbatas pada lingkungan anoksik dan sering ditemukan di sedimen danau. Beberapa Deltaproteobacteria adalah pereduksi sulfat, dan mereka sering ditemukan tepat di bawah kemoklin di mana perairan oksik dan anoksik bertemu.

2.2.2 Cyanobacteria

Cyanobacteria, kadang-kadang disebut sebagai ganggang hijau biru, sering dihitung di antara fitoplankton, tetapi mereka lebih tepat termasuk dalam domain bakteri. Seperti fitoplankton eukariotik, mereka melakukan fotosintesis oksigen menggunakan fotosistem I dan II, dan cyanobacteria adalah nenek moyang kloroplas eukariotik. Cyanobacteria bukan satu-satunya bakteri fototrofik, tetapi umumnya merupakan bakteri fototrof yang dominan di bagian danau yang beroksigen.

Banyak Cyanobacteria yang mampu melakukan fiksasi nitrogen, dan dengan demikian mereka dapat menjadi pemain kunci dalam siklus karbon dan nitrogen di beberapa sistem. Beberapa Cyanobacteria diketahui menghasilkan racun dan membentuk pertumbuhan yang mengganggu dalam sistem eutrofik. Kelompok air tawar termasuk kelompok *Planktothrix agardhii*, *Aphanizomenon flos aquae*, dan kelompok *Microcystis*, dan kelompok *Synechococcus* 6b berisi perwakilan air laut dan air tawar.

2.2.3 Actinobacteria

Actinobacteria, yang sebelumnya dikenal sebagai bakteri gram positif G⁺ C yang tinggi, adalah kelompok bakteri lain yang umumnya ditemukan di danau dengan berbagai macam kimia air. Actinobacteria dapat terdiri dari sebagian besar (hingga 60%) dari bakteri ioplankton di beberapa sistem air tawar, dan kelimpahannya sering mencapai puncaknya pada akhir musim gugur dan musim dingin. Bakteri Actino tampaknya lebih toleran terhadap kondisi dengan konsentrasi karbon organik yang rendah, dan mereka dapat digantikan oleh Betaproteobacteria ketika ganggang berkembang biak yang menyebabkan peningkatan kadar karbon.

Actinobacteria air tawar terbagi dalam empat kelompok filogenetik yang berbeda: acI, acII, acIII, dan acIV. Actinobacteria dalam clade acI dan acII eksklusif untuk air tawar. Dua subkluster acII, acII-B (sebelumnya Luna-1) dan acII-D (sebelumnya Luna-2), terdiri dari isolat *cro* bacterial ultrami

(volume sel kluster acIV dapat ditemukan di berbagai jenis habitat: danau dan sungai, serta muara dan perairan laut dan sedimen).

2.2.4 Bacteroidetes

Filum ini terdiri atas anggota genera *Cytophaga*, *Bacteroides*, dan *Flavobacterium*, dan sebelumnya telah disebut sebagai kelompok *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*, atau CFB. Di perairan tawar, *Bacteroidetes* terdiri dari sebagian besar komunitas bakteri yang terkait dengan partikel, dan mereka juga dapat ditemukan di kedalaman danau, di mana mereka dapat mendegradasi makromolekul bandel. Kelompok *Bacteroidetes* yang utama meliputi FukuN47, LD2 (sebelumnya cfIV), CL500-6, PRD01a001B (sebelumnya cfIII), dan GKS2-216 (sebelumnya cfIII).

2.2.5 Filum Air Tawar Lainnya

Meskipun kurang menonjol dibandingkan dengan filum-filum yang telah dirinci, kelompok bakteri lain juga telah ditemukan di air tawar. *Firmicutes*, atau gram positif G⁺ C rendah, telah ditemukan di sedimen air tawar, tetapi tidak di kolom air. *Verrucomicrobia* telah ditemukan dari sampel sedimen dan kolom air dari danau oligotrofik dan eutrofik. *Planktomyces* terdeteksi pada kelimpahan rendah di danau, paling sering melekat pada materi partikulat.

Sekuens *Acidobacteria* telah ditemukan dari sedimen danau asam. Filum *Chloroflexi* (bakteri nonsulfur hijau) dan *Chlorobi* (bakteri sulfur hijau) mengandung fototrof anoksigenik yang telah terbukti memiliki distribusi vertikal tertentu di danau, dengan *Chloroflexi* (bersama dengan populasi *Chromatiaceae* gamma-proteobakteri ungu) biasanya lebih tinggi di kolom air. Keberadaan zat humat dalam kolom air tampaknya memilih *Chlorobi* dalam komunitas metal limnetik.

2.3 Variasi Temporal dalam Bakteri

Komunitas bakteri danau memiliki keragaman genetik yang tinggi, tetapi umumnya memiliki pemerataan yang rendah jika dibandingkan dengan komunitas lain. Artinya, pada waktu tertentu, komunitas cenderung didominasi oleh hanya beberapa taksa yang berbeda, dengan sebagian besar spesies yang ada menunjukkan kelimpahan yang sangat rendah. Dinamika populasi dari

jenis-jenis yang dominan menunjukkan pertumbuhan yang singkat pada waktu yang berbeda dan kedalaman yang berbeda, yang menghasilkan 'suksesi' anggota komunitas yang dominan. Dinamika 'bloom-and-bust' ini telah mengarah pada kesimpulan bahwa dinamika bakteri danau didorong oleh banyak relung yang berubah dengan cepat yang dieksploitasi oleh spesies yang berbeda, yang berasal dari kumpulan besar organisme yang tidak aktif.

Dari sudut pandang fungsional, aktivitas mikroba dominan sebagian besar bertanggung jawab atas terciptanya relung ekologi baru. Relung ini dengan cepat diisi oleh spesies yang sebelumnya tidak aktif, yang kemudian menciptakan relung baru, dan dengan demikian fungsi, keanekaragaman, dan dinamika sistem merupakan fenomena yang tidak terpisahkan. Tentu saja, relung baru juga dapat dihasilkan dari faktor-faktor yang berada di luar komunitas bakteri. Pembalikan dan eksploitasi relung yang cepat dapat menghasilkan pergeseran dramatis dalam posisi komunitas bakteri dalam periode waktu yang singkat, namun komunitas bakteri tidak selalu berubah dengan cepat. Kecepatan perubahan dalam komunitas bakteri tampaknya bergeser antara periode stabilitas yang lama dan periode pergantian yang cepat di danau.

Komunitas alga menunjukkan dinamika yang serupa. Dengan demikian, sifat umum dari komunitas pelagis mungkin adalah bahwa mereka mengalami serangkaian keberhasilan sepanjang tahun. Relung yang tersedia terisi, komunitas beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang lazim, dan kemudian kondisi yang berubah mendorong pergantian spesies yang cepat, memulai proses lagi di sepanjang lintasan ekologi yang berbeda. Data dari banyak penelitian bakteri menunjukkan bahwa ada komponen musiman yang kuat pada pola perubahan komunitas, dan dengan demikian masuk akal untuk melihat peristiwa musiman sebagai sumber utama perubahan komunitas bakteri. Salah satu sumber perubahan musiman tersebut, setidaknya di daerah beriklim nontropis, adalah suhu.

Laju pertumbuhan bakteri tampaknya bergantung pada suhu di danau yang hanya mencapai sekitar 15 C, tetapi suhu mungkin masih memiliki pengaruh penting pada keanekaragaman bakteri dan komposisi komunitas di luar kisaran ini. Di beberapa danau, suhu air adalah penentu utama kepadatan air dan di sana mengontrol pencampuran kolom air, yang telah terbukti memengaruhi komunitas bakterioplankton. Perubahan fisik dan kimiawi pada lingkungan danau akibat pencampuran dan stratifikasi kemungkinan menjadi penyebab utama pergantian komunitas bakteri di danau yang mengalami pencampuran.

Peristiwa musiman lainnya yang tidak terkait dengan suhu atau dinamika pencampuran juga telah diaplikasikan sebagai mekanisme yang bertanggung jawab atas variasi komunitas bakteri.

Korelasi antara dinamika musiman ganggang dan fitoplankton dengan bakteri menunjukkan bahwa interaksi biologis itu penting. Untuk danau dengan sungai yang mengalir, perubahan musiman dalam rezim aliran juga dapat berdampak pada konsentrasi nutrisi di danau. Dampak peristiwa musiman eksternal pada komunitas bakteri terlihat jelas bahkan pada komunitas dengan komposisi yang berbeda. Komunitas bakteri di danau beriklim utara menunjukkan dinamika musiman yang sama selama beberapa tahun meskipun identitas anggota komunitas yang penting di danau-danau ini berbeda setiap tahunnya. Pengaruh peristiwa eksternal ini berbeda dengan dinamika internal di dalam komunitas yang memunculkan suksesi.

Yang pertama mewakili kekuatan penataan yang berubah dalam skala waktu yang lama relatif terhadap umur organisme yang terlibat; yang kedua merupakan interaksi dan respon terhadap lingkungan dan relung yang tersedia, dan ini terjadi dalam skala waktu yang lebih relevan dengan organisme individu. Gambaran yang muncul dari dinamika komunitas bakteri danau adalah gambaran yang melibatkan interaksi antara variabel yang cepat (misalnya, gangguan dan interaksi biologis), variabel yang lambat, variabel musiman, dan respons cepat populasi individu terhadap relung yang muncul dari perubahan ini.

2.4 Variasi Spasial dalam Bakteri

Heterogenitas spasial penting bagi penciptaan dan pemeliharaan keanekaragaman hayati. Hubungan spasial dapat menyusun interaksi biologis dan memberikan batasan pada aliran materi dan energi dalam ekosistem. Untuk mikroba, hubungan spasial dianggap lebih stabil di dalam tanah daripada di lingkungan pelagis, tetapi ruang mungkin tidak kalah penting untuk bentuk-bentuk akuatik. Ukuran bakteri yang kecil memungkinkan mereka untuk merespons heterogenitas spasial dalam rentang skala yang sangat besar, dari mikrometer hingga skala global. Alga dan partikel adalah titik-titik utama aktivitas bakteri dalam sistem air tawar, dan mereka dapat dikolonisasi secara besar-besaran oleh bakteri.

Ketersediaan sumber daya yang dapat dieksploitasi dapat mendasari pembentukan komunitas terkait partikel di lingkungan perairan. Kolonisasi bakteri pada materi partikulat meningkat setelah pertumbuhan diatom, dengan peningkatan produksi, kelimpahan, dan aktivitas enzim bakteri secara bersamaan. Produksi sekunder bakteri yang menempel pada partikel di danau dapat menyamai atau melebihi produksi bakteri yang hidup bebas, bahkan ketika kurang dari 10% sel yang terkait dengan partikel.

Komposisi komunitas yang terkait dengan partikel berbeda dengan komposisi komunitas bakteri yang hidup bebas. Dengan demikian, partikel organik mewakili ceruk yang berbeda yang dieksploitasi oleh kumpulan organisme yang unik. Perubahan lingkungan yang terjadi dengan kedalaman merupakan sumber variasi yang penting bagi komunitas bakteri di danau. Salah satu faktor terpenting yang berubah dengan kedalaman adalah ada atau tidaknya oksigen yang tersedia. Kelimpahan dan ukuran sel rata-rata bakteri lebih besar di perairan anoksik daripada di perairan oksik, dan komunitas bakteri anoksik secara keseluruhan lebih produktif daripada komunitas oksik.

Komposisi komunitas bakteri berbeda antara danau epilimnia dan hipolimnia, terutama ketika danau epilimnia teroksigenasi dan danau hipolimnia tidak teroksigenasi. Komunitas bakteri lebih mirip di bagian oksik danau yang berbeda daripada di dalam danau yang sama di seberang oksiklin. Perbedaan-perbedaan ini telah dipelajari dengan baik di danau-danau meromictic, dan perubahan komunitas dengan kedalaman lebih jelas di danau-danau ini tepat di sekitar oksiklin. Identitas fototrof bakteri utama berubah seiring dengan kedalaman, sebagai respons terhadap tingkat cahaya yang berbeda dan karakteristik spektral yang berbeda dari foton yang masuk. Secara umum, kita menemukan Cyanobacteria di epilimnion oksik, Chlorobi dan Gammaproteobacteria fototrofik seperti Chromatiaceae di dekat antarmuka oksik-anoksik, dan Chloroflexi di dekat bagian atas zona anoksik, di mana mereka dapat mengoksidasi H₂S.

Namun, urutan ini sering terganggu oleh dinamika pencampuran musiman di danau yang memiliki rezim stratifikasi yang bervariasi menurut waktu. Heterotrof juga dapat merespons secara tidak langsung terhadap cahaya; komunitas bakteri dapat bergeser dari terbatas P di epilimnion menjadi terbatas C di perairan yang kurang cahaya. Selain variasi dengan kedalaman, heterogenitas horizontal yang signifikan telah diamati pada komunitas bakteri danau karena fitur geografis seperti teluk dan penyempitan sempit antara cekungan, yang mengurangi aliran air antara berbagai area danau. Variabilitas

di dalam danau dapat mengindikasikan bahwa bagian danau yang berbeda menghadirkan bakteri dengan relung yang berbeda; sebagai alternatif, laju pertumbuhan bakteri yang cepat dapat memungkinkan komunitas untuk menunjukkan dinamika individu pada skala waktu yang lebih pendek daripada waktu tinggal rata-rata air permukaan di berbagai bagian danau.

Variasi horizontal dalam komposisi komunitas bakteri di danau umumnya kecil dibandingkan dengan perbedaan yang terlihat di antara danau-danau. Banyak penelitian telah melaporkan bahwa danau yang berbeda memiliki komunitas bakteri yang berbeda pula. Variasi antar danau disebabkan oleh perbedaan kejernihan air, pH, kandungan asam humat, salinitas, produktivitas dan konsentrasi nutrisi, perbedaan rezim pencampuran kolom air atau waktu tinggal di dalam air, dan kandungan logam beracun.

Mengingat berbagai kondisi lingkungan yang diwakili oleh danau, tidak mengherankan jika komposisi komunitas menunjukkan variasi seperti itu, dan danau dapat dipandang sebagai 'pulau' individu di mana komunitas dan lingkungan mengikuti jejak individu. Namun, komunitas bakteri dari danau yang berbeda tidak selalu berbeda, terutama ketika danau mewakili lingkungan yang sangat mirip dan ketika ada banyak variasi temporal dalam komposisi komunitas. Sebagai contoh, komunitas bakteri dari danau yang terhubung dengan sungai atau aliran air lebih mirip satu sama lain dibandingkan dengan komunitas dari danau yang tidak terhubung. Selain itu, komunitas bakteri di danau dengan waktu retensi hidraulik yang pendek mirip dengan komunitas dari aliran masuk dan aliran keluar, sedangkan komunitas di danau dengan waktu retensi hidraulik yang panjang berbeda dengan komunitas sungai. Hal ini menunjukkan bahwa fitur-fitur tingkat lanskap juga memengaruhi komunitas bakteri di danau.

2.5 Peran Bakteri dengan Organisme Lain

Pola komposisi komunitas bakteri terkait dengan dinamika organisme pelagis lainnya. Seperti semua anggota ekosistem, bakteri berinteraksi dengan banyak organisme yang berbeda, dan interaksi ini secara nyata memengaruhi struktur dan dinamika komunitas bakteri.

2.5.1 Predasi oleh Protista

Protista bersilia dan protista berflagel, yang masing-masing disebut sebagai ciliata dan heterotrofik nanoflagellata (HNF), terlibat dalam berbagai interaksi yang erat dengan bakteri. Bakteri dan ciliata anaerob dapat memiliki hubungan simbiosis, seperti yang kadang-kadang terlihat di sedimen danau, di mana pertukaran hidrogen antara organisme ini berkontribusi pada produksi metana oleh bakteri. Namun, hubungan mangsa-pemangsa adalah interaksi bakteri-protista yang paling banyak dipelajari, dan protista umumnya dianggap sebagai pemangsa bakteri yang paling efektif di danau. Ciliata dan HNF dapat mengkonsumsi sebagian besar stok bakteri setiap hari, dan penggembalaan protista dapat mengontrol kelimpahan total bakteri dan menyusun komunitas bakteri, jika protista itu sendiri tidak dimangsa.

Ciliata kecil dan HNF memengaruhi populasi bakteri secara langsung, sedangkan ciliata besar juga dapat mengonsumsi HNF, sehingga terjadi interaksi jaring-jaring makanan yang kompleks. Penggembalaan bakteri oleh protista menunjukkan banyak fitur interaksi predator-mangsa yang klasik. Penggembalaan selektif ukuran oleh protista dapat secara langsung memengaruhi komposisi komunitas bakteri.

Ultramicrobacteria (2,44 mm dalam satu dimensi) dapat lolos dari penggembalaan HNF, seperti halnya Bacteroidetes dan Alpha dan Beta Proteobacteria tertentu, yang dapat membentuk filamen besar dengan adanya penggembala. Bakteri yang terkait dengan partikel juga terlindungi dari penggembalaan oleh HNF. Protista telah terbukti mematuhi aturan mencari makan yang optimal, secara selektif mengonsumsi sel yang paling umum dan paling aktif secara metabolik.

Dengan demikian, protista dapat berfungsi sebagai predator utama, yang memengaruhi morfologi, aktivitas, dan komposisi komunitas bakteri. Protista yang merumpuk di bakteri danau dapat bertindak sebagai saklar ekologis, mendaur ulang nutrisi terlarut dan karbon organik kembali ke lingkungan atau mengangkut biomassa bakteri ke organisme yang lebih besar melalui hubungan jaring-jaring makanan dengan zooplankton.

2.5.2 Predasi oleh Cladocerans

Cladocerans dianggap sebagai pemakan filter yang tidak selektif, dan mereka mampu memakan mangsa yang jauh lebih besar daripada protista. Sebagian besar cladocerans, terutama *Daphnia*, mampu memakan partikel seukuran

bakteri dan mengendalikan pertumbuhan populasi bakteri. Namun, cladocerans tampaknya kurang efisien dalam memproses sel bakteri terkecil. Tekanan penggembalaan yang kuat oleh *Daphnia* dapat menggeser komunitas bakteri ke arah sel yang lebih kecil, tetapi lebih aktif secara metabolik. Selain itu, cladocerans dapat merumput dan menekan populasi nanoflagellata.

Predasi HNF pada bakteri tidak signifikan ketika ada grazer cladoceran bertubuh besar. Ini bukan merupakan kaskade trofik, karena cladoceran itu sendiri dapat menekan kelimpahan bakteri total. Namun, bagian-bagian tertentu dari komunitas bakteri dapat dilepaskan dari penggembalaan protista selektif, yang menyebabkan pergeseran di dalam komunitas. Karena cladocerans mengkonsumsi bakteri fila mentous yang tidak dikonsumsi oleh HNF, pergeseran taksonomi dalam komposisi komunitas bakteri yang disaksikan di bawah penggembalaan HNF seharusnya tidak terjadi. Lebih penting lagi, sel-sel berukuran sedang yang tumbuh cepat yang ditelan oleh HNF dapat dilepaskan dari tekanan oleh penggembalaan cladoceran, terutama jika mereka cukup kecil sehingga tidak dapat ditangani secara efisien oleh peralatan pemberian pakan cladoceran.

2.5.3 Lisis oleh Virus

Virus mungkin selektif terhadap sel yang diinfeksi atau analisisnya. Lisis virus memengaruhi sebagian komunitas bakteri secara tidak proporsional, memilih populasi yang tumbuh lambat dan bersifat umum, yaitu 'K-strategis'. Lisis virus yang tinggi menurunkan ukuran rata-rata sel dalam komunitas bakteri, dan frekuensi sel yang terlihat terinfeksi.

2.5.4 Interaksi dengan Fitoplankton

Secara umum, kelimpahan bakteri terkait dengan biomassa alga, dan produksi sekunder bakteri terkait dengan produksi primer bersih oleh fitoplankton di seluruh sistem akuatik; parameter-parameter ini juga berkorelasi dalam skala musiman. Kelimpahan dan produktivitas bakteri terkadang mencapai puncaknya selama atau segera setelah pertumbuhan fitoplankton. Susunan komunitas fitoplankton dapat memengaruhi aktivitas bakteri dan komposisi komunitas.

Perubahan ini dapat dimediasi oleh konsentrasi dan karakteristik karbon organik terlarut yang dilepaskan oleh fitoplankton yang berbeda. Keanekaragaman dan komposisi komunitas fitoplankton dan bakteri sangat

berkorelasi dari waktu ke waktu. Hal ini dapat mewakili respon bakteri dan fitoplankton terhadap pemicu eksternal yang sama, tetapi juga dapat mengindikasikan pengaruh langsung dari satu komunitas terhadap komunitas lainnya. Interaksi spesifik spesies yang ketat antara alga dan beberapa bakteri dapat menjadi faktor penting yang menentukan keberadaan dan ketiadaan spesies bakteri.

2.5.5 Interaksi Bakteri di Sepanjang Gradien Produktivitas

Produktivitas danau memiliki pengaruh yang signifikan terhadap komposisi komunitas bakteri. Proporsi sel yang aktif secara metabolik meningkat seiring dengan peningkatan produktivitas primer, dan produktivitas primer dapat menentukan jumlah relung yang tersedia untuk berbagai spesies bakteri. Keragaman clade bakteri yang berbeda menunjukkan hubungan yang berbeda dengan produktivitas primer.

Bacteroidetes tampak paling beragam pada tingkat produktivitas menengah, Alphaproteobacteria paling beragam pada tingkat produktivitas rendah dan tinggi, dan keanekaragaman Betaproteobacteria tidak menunjukkan hubungan dengan produktivitas primer. Perubahan komposisi komunitas pada gradien produktivitas juga dapat dikaitkan dengan perubahan hubungan mangsa-pemangsa.

Dampak penggembalaan nanoflagellata berubah sepanjang gradien produktivitas, dengan para penggembala dapat melakukan kontrol lebih besar terhadap laju pertumbuhan bakteri total dalam kondisi oligotrofik, dan kontrol yang lebih besar terhadap komposisi komunitas bakteri dalam sistem eutrofik. Pergeseran pentingnya predator memiliki implikasi penting bagi siklus hara, aliran energi, dan ketahanan sistem.

Bab 3

Morfologi Bakteri

3.1 Ukuran dan Bentuk Sel Bakteri

Bakteri adalah organisme yang berukuran mikron. Ukuran sel bakteri beragam. Mycoplasma merupakan bakteri yang memiliki ukuran sel terkecil diantara spesies bakteri lainnya. Umumnya Mycoplasma berukuran 125 – 250 nm. Mycoplasma adalah bakteri patogen penting penyebab infeksi pneumonia (Carroll et al., 2016). Thiomargarita namibiensis diketahui memiliki ukuran sel terbesar dibandingkan dengan sel bakteri lainnya yaitu diameter sel sebesar 750 μm .



Gambar 3.1: Bentuk dan Ukuran Sel Thiomargarita Namibiensis (Schulz, 2006)

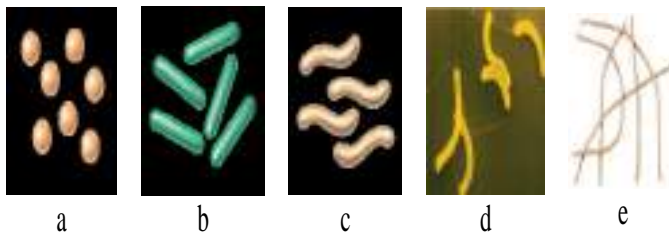
Gambar 3.1 menunjukkan bentuk dan ukuran sel Thiomargarita namibiensis. Sebanyak 98% dari volume selnya berisi vakuola yang mengandung butiran sulfur. Thiomargarita namibiensis merupakan bakteri kemolitotrof

mengoksidasi sulfur dari kelas Gammaproteobacteria (Schulz, 2006). Perbandingan ukuran sel bakteri spesies lainnya dapat dilihat pada tabel 3.1.

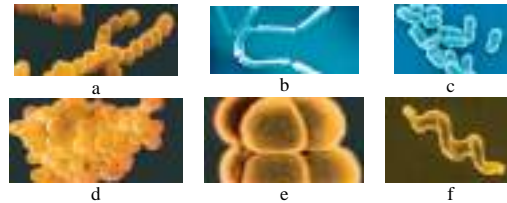
Tabel 3.1: Perbandingan Ukuran Sel Bakteri (Madigan et al., 2019)

Nama Spesies	Ukuran Sel
<i>Thiomargarita namibiensis</i>	750 μm
<i>Epulopiscium fishelsoni</i>	80 x 600 μm
<i>Beggiatoa</i>	50 x 160 μm
<i>Escherichia coli</i>	1 x 2 μm
<i>Pelagibacter ubiquea</i>	0,2 x 0,5 μm
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0,2 μm

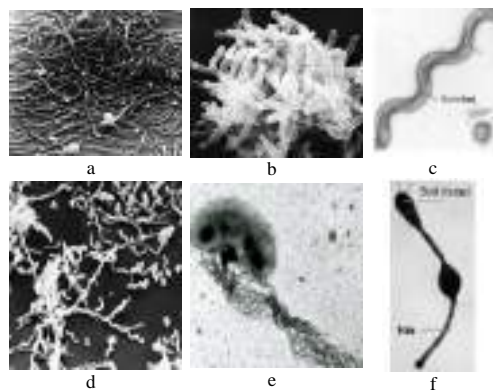
Bentuk dasar bakteri umumnya ada 5 tipe yaitu: kokus (coccus / bulat), basil (bacillus / batang), spiral, vibrio (batang melengkung), dan filamen (Gambar 3.2). Sebagaimana kita ketahui bahwa bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler, namun pada beberapa spesies bakteri tertentu ada yang hidupnya berkoloni sehingga susunan selnya membentuk suatu klaster setelah pembelahan selnya dan ini menjadi ciri khas bentuk bakteri tersebut. Susunan sel yang membentuk rantai disebut strepto contohnya adalah bentuk rantai kokus pada *Streptococcus pneumoniae* dan rantai basil pada *Bacillus anthracis*. Susunan sel kokus yang bergerombol seperti bentuk anggur disebut staphylococcus contohnya adalah *Staphylococcus aureus*. Ada juga sel kokus yang membentuk susunan seperti kubus disebut *Sarcina (sarsina)*. Gambar 3.3 menunjukkan sel bakteri yang membentuk suatu klaster. Selain itu, terdapat bentuk lain bakteri yang tidak umum yaitu bentuk spiroket pada *Treponema pallidum*, bentuk hifa dan tunas pada *Hyphomicrobium*. Gambar 3.4 menunjukkan bentuk – bentuk lain dari bakteri beserta contoh spesiesnya.



Gambar 3.2: Bentuk Dasar Bakteri. (a) kokus (b) basil (c) spiral (d) vibrio (e) filamen (Tortora et al., 2013; Madigan et al., 2019)



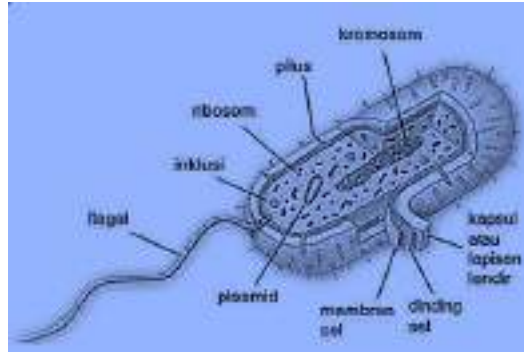
Gambar 3.3: Bentuk Klaster Bakteri. (a) streptokokus (b) streptobasil (c) kokobasil (d) stafilokokus (e) sarsina (f) spirillum (Tortora et al., 2013)



Gambar 3.4: Contoh Spesies Bakteri dengan Bentuk yang Lain (a) *Mycoplasma pneumoniae*, SEM (62,000x). (b) *Actinomyces*, SEM (21,000x). (c) *Treponema pallidum*. (d) *Spiroplasma*, SEM (13,000x). (e) *Gallionella ferruginea* dengan stalk. (f) *Hyphomicrobium* dengan hifa dan bud (tunas) (Prescott et al., 2002)

3.2 Struktur Sel Bakteri

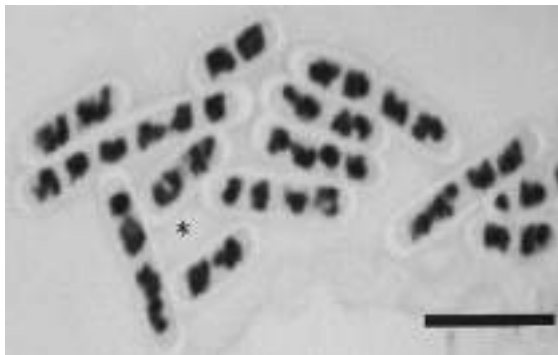
Sel bakteri secara anatomi struktur selnya dapat dibedakan menjadi 2 bagian yaitu struktur internal dan struktur eksternal. Struktur internal sel meliputi nukleoid / daerah inti, plasmid, ribosom, endospora (pada genus tertentu), sitoplasma, dan membran sel. Struktur sebelah luar membran sel merupakan struktur eksternal yaitu dinding sel, glikokaliks (kapsul atau lapisan lendir), flagel, dan pilus. Anatomi struktur sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.5.



Gambar 3.5: Anatomi Struktur Sel Bakteri (www.brainly.co.id)

3.2.1 Struktur Internal Sel Bakteri

Sel bakteri diketahui tidak memiliki membran inti atau disebut prokariot. Kromosom bakteri terletak di suatu daerah yang bentuknya tidak beraturan yang disebut sebagai nukleoid. Umumnya bakteri memiliki satu DNA untai ganda berbentuk sirkular, namun beberapa ada yang mengandung DNA kromosom linier. Nukleoid dapat terlihat di bawah mikroskop cahaya setelah diberi pewarna Feulgen yang bereaksi dengan DNA. Sebuah sel dapat memiliki lebih dari 1 nukleoid saat terjadi proses pembelahan sel setelah materi genetik berduplikasi (Prescott et al., 2002). Gambar 3.6 menunjukkan nukleoid yang tampak di bawah mikroskop cahaya setelah diberi zat warna Feulgen.



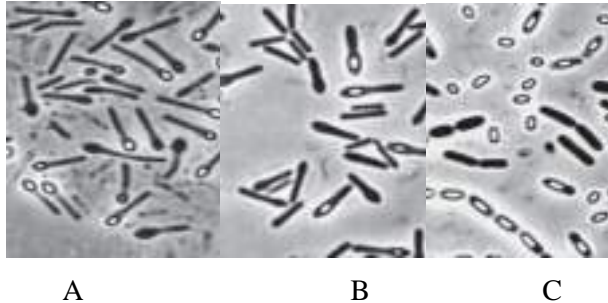
Gambar 3.6: Nukleoid (berwarna gelap) berjumlah lebih dari 1 di dalam 1 sel yang sedang terjadi pembelahan setelah proses replikasi materi genetik (Prescott et al., 2002)

Selain kromosom, banyak bakteri ditemukan memiliki plasmid di dalam selnya. Plasmid adalah DNA ekstrakromosom beruntai ganda berbentuk sirkular. Plasmid dapat bereplikasi sendiri dan diwariskan pada keturunannya. Plasmid tersusun oleh gen penyandi sifat yang dapat diturunkan namun bukan gen yang terlibat dalam proses pertumbuhan dan reproduksi sel. Plasmid membawa gen yang memberikan keuntungan pada bakteri. Misalnya, gen penyandi sifat resistensi antibiotik, gen penyandi sintesis metabolit baru, sifat patogenisitas, atau sifat lainnya. Jika plasmid dihilangkan maka sel akan tetap hidup. Plasmid dapat ditransfer dari satu sel ke sel lainnya melalui pili seks dengan cara konjugasi sehingga dapat menyebar dalam suatu populasi bakteri (Talaro & Chess, 2012).

Sitoplasma merupakan substansi koloid yang mengisi ruangan sel di bagian dalam. Berbeda dengan eukariot, sitoplasma bakteri (prokariot) tidak mengandung organel terikat membran. Sitoplasma mengandung berbagai enzim, air (80%), protein, karbohidrat, asam nukleat, dan lipid (Tortora et al., 2013). Ribosom pada bakteri terletak tersebar di sitoplasma namun ada juga yang melekat di membran sel. Ribosom terlibat dalam proses sintesis protein di dalam sel. Badan inklusi merupakan organel penyimpan nutrisi. Badan inklusi pada bakteri akuatik disebut sebagai vesikula gas yang terlibat dalam sifat pengapungan di air. Bakteri tertentu memiliki badan inklusi yang disebut granul. Granul berisi sulfur pada bakteri fotosintetik dan granul berisi polifosfat pada bakteri *Corynebacterium* dan *Mycobacterium* (Talaro & Chess, 2012).

Genus *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Sporosarcina* memproduksi sel dorman yang disebut sebagai endospora. Proses pembentukan endospora disebut endosporulasi. Endospora ber dinding sangat tebal tersusun oleh kalsium dan dipicolinic acid. Hal ini menyebabkan endospora resisten terhadap kondisi kering dan paparan termal, radiasi, serta agen kimiawi (Carroll et al., 2016). Endospora merupakan bentuk pertahanan hidup dari kondisi ekstrem. Endospora mudah tersebar dan terbawa oleh air dan angin. Beberapa bakteri patogen manusia dan hewan penyebab botulisme, tetanus dan penyebab infeksi melalui makanan adalah bakteri yang memiliki endospora. Sel tidak bersporulasi ketika sedang aktif tumbuh (ketersediaan nutrisi penting cukup) tetapi hanya ketika pertumbuhan berhenti karena habisnya suatu nutrisi penting. Jadi, bakteri seperti *Bacillus* membentuk endospora untuk menghentikan pertumbuhan sel vegetatif dan memulai sporulasi ketika misalnya nutrisi utama seperti karbon atau nitrogen habis. Terdapat 3 tipe

endospora pada bakteri berdasarkan letaknya yaitu endospora terminal, endospora subterminal, dan endospora sentral (Gambar 3.7).



Gambar 3.7: Fotomikrograf fase kontras menunjukkan lokasi endospora intraseluler yang berbeda pada spesies bakteri yang berbeda. Endospora tampak cerah dengan mikroskop fase kontras. (a) spora terminal (b) spora subterminal (c) spora sentral (Madigan et al., 2019)

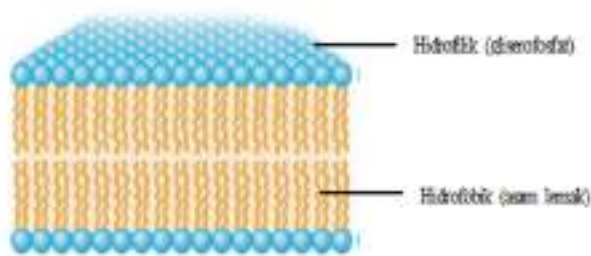
Selain menggunakan mikroskop fase kontras, pengamatan endospora juga dapat dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan metode Schaeffer-Fulton. Metode ini menggunakan dua zat warna yaitu malachite green dan safranin (Hussey & Zayaitz, 2007). Pada metode pewarnaan ini akan menghasilkan sel vegetatif berwarna merah dan endospora berwarna hijau (Gambar 3.8).



Gambar 3.8: Endospora pada *Bacillus subtilis*

Membran sel atau membran plasma yaitu selaput tipis yang terdapat di sebelah dalam dinding sel yang membungkus sitoplasma. Fungsi utama membran sel

adalah mengatur transportasi material molekul ke dalam dan keluar sel. Membran sel bakteri tersusun oleh phospholipid bilayer yang terikat protein. Fosfolipid terdiri dari struktur hidrofobik dan struktur hidrofilik (Gambar 3.9). Struktur hidrofobik terdiri dari asam lemak tidak bercabang dan struktur hidrofilik terdiri dari gliserol yang mengandung fosfat terikat dengan gugus gula. Lipidnya tersusun oleh D-gliserol ester (Madigan et al., 2019). Berbeda dengan bakteri lainnya, membran sel pada *Mycoplasma* tersusun oleh sterol (Talaro & Chess, 2012).

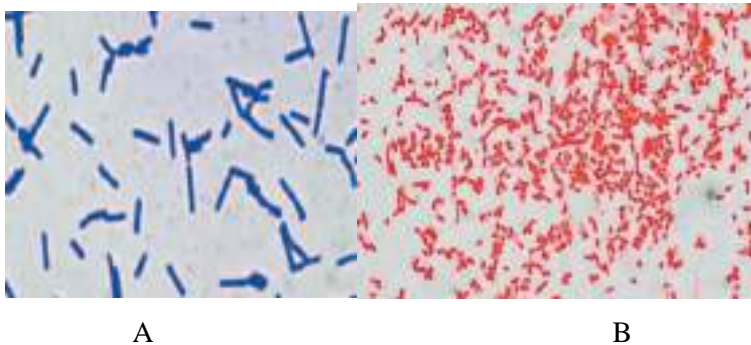


Gambar 3.9: Struktur Membran Sel Bakteri Phospholipid Bilayer (Madigan et al., 2019)

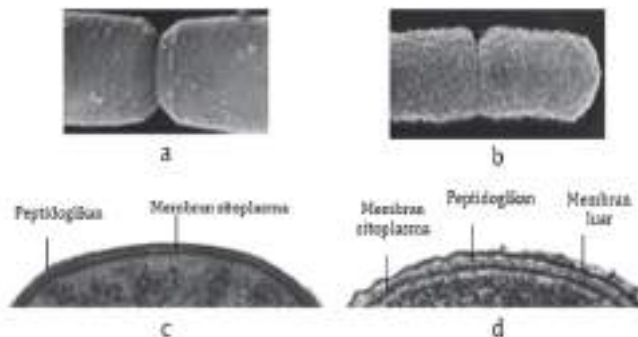
3.2.2 Struktur External Sel Bakteri

Struktur eksternal sel bakteri dimulai dari lapisan di sebelah luar membran sel yaitu dinding sel. Dinding sel berfungsi menjaga integritas dan bentuk sel, osmoregulator sel, serta proteksi sel dari perubahan lingkungan luar sel. Dalam dunia medis, dinding sel bakteri memiliki peran penting pada patogenisitas suatu bakteri penyebab penyakit dan sebagai situs target antibiotik (Tortora et al., 2013). Komponen kimia penyusun dinding sel bakteri berbeda dengan sel tumbuhan, hewan, dan fungi. Dinding sel bakteri tersusun oleh peptidoglikan (dikenal sebagai murein). Peptidoglikan terdiri dari N-acetylglucosamine (NAG) dan N-acetylmuramic acid (NAM). Bakteri dibedakan menjadi dua kelompok yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pengelompokan ini berdasarkan reaksi pewarnaan Gram. Reaksi pewarnaan Gram menghasilkan warna merah pada dinding sel bakteri Gram negatif dan warna violet atau biru tua pada dinding sel bakteri Gram positif (Gambar 3.10). Metode pewarnaan Gram dapat digunakan sebagai tahap awal identifikasi bakteri. Komponen penyusun dinding sel berperan penting dalam reaksi pewarnaan Gram bakteri. Dinding sel bakteri Gram negatif sedikitnya tersusun oleh dua lapis yaitu 10% peptidoglikan dan membran luar (outer layer),

sedangkan bakteri Gram positif tersusun oleh satu lapis yaitu 90% peptidoglikan yang berikatan dengan asam teikoat (Carroll et al., 2016). Gambar 3.11 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada tekstur permukaan dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Permukaan dinding sel Gram positif tampak halus, sedangkan permukaan dinding sel Gram negatif tampak rigid dan kasar.



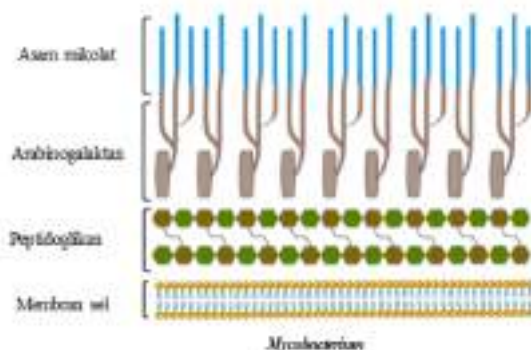
Gambar 3.10: Hasil Reaksi Pewarnaan Gram Bakteri. (a) Reaksi Menghasilkan Warna Violet pada Bakteri Gram Positif. (b) Reaksi Menghasilkan Warna Merah Pada Bakteri Gram Negatif (Tortora et al., 2013)



Gambar 3.11: Mikrograf Dinding Sel Bakteri Pada Mikroskop Elektron. (a, b) Tekstur Permukaan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif (c, d) Susunan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif (Madigan et al., 2019)

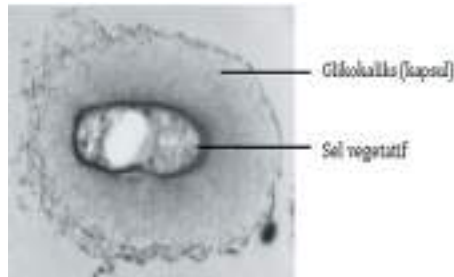
Berbeda dengan dinding sel bakteri umumnya, dinding sel Mycobacterium tersusun oleh asam mikolat, arabinogalaktan, dan peptidoglikan (Gambar 3.12). Hal ini menyebabkan dinding sel Mycobacterium tidak dapat

direaksikan dengan zat pewarna Gram sehingga bakteri ini tidak dapat diklasifikasikan ke dalam bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Carroll et al., 2016). Selain Mycobacterium, terdapat genus bakteri yang unik berbeda dengan bakteri lainnya yaitu Mycoplasma, genus bakteri ini adalah satu – satunya genus bakteri yang tidak memiliki dinding sel.



Gambar 3.12: Struktur Dinding Sel Mycobacterium (Seničar et al., 2020)

Glikokaliks merupakan substansi sekret ekstraseluler yang menyelimuti sel berada diluar dinding sel (Gambar 3.13). Glikokaliks berupa polimer yang bersifat kental (lengket) yang tersusun oleh polisakarida, polipeptida, atau kedua nya. Komposisi kimia dan ketebalan glikokaliks beragam pada setiap spesies bakteri. Glikokaliks dengan tekstur encer dan tidak kompak disebut sebagai lapisan lendir (slime layer), sedangkan glikokaliks dengan tekstur lebih kompak (kenyal) disebut sebagai kapsul. Kapsul berfungsi sebagai proteksi bakteri patogen dari fagositosis dan berperan dalam sifat virulensi patogenitas bakteri. Glikokaliks juga berperan dalam perlekatan bakteri pada permukaan jaringan inang dan berkontribusi pada pembentukan biofilm. Contohnya bakteri *Streptococcus mutans* yang mampu melekat pada enamel gigi dengan glikokaliksnnya sehingga membentuk suatu lapisan yang disebut plak pada permukaan gigi. Produk asam yang dihasilkan oleh *Streptococcus mutans* ini menyebabkan karies gigi. Selain itu, glikokaliks juga berfungsi sebagai pertahanan sel dari kondisi kering (Carroll et al., 2016). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengamati kapsul bakteri pada mikroskop cahaya yaitu dengan metode Maneval's capsule staining (Hughes & Smith, 2007). Gambar 3.14 menunjukkan hasil pewarnaan kapsul menggunakan metode Maneval's capsule staining, kapsul terlihat sebagai lingkaran cahaya bening di sekitar bakteri berbentuk batang.

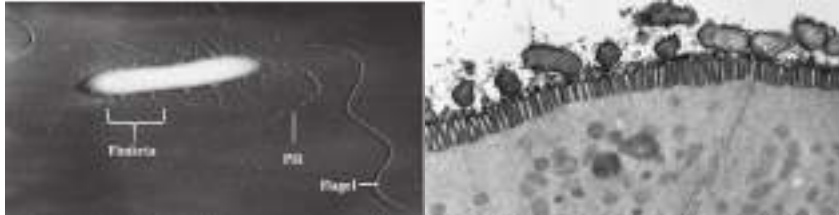


Gambar 3.13: Mikrograf kapsul pada sel bakteri pada mikroskop elektron (Madigan et al., 2019).



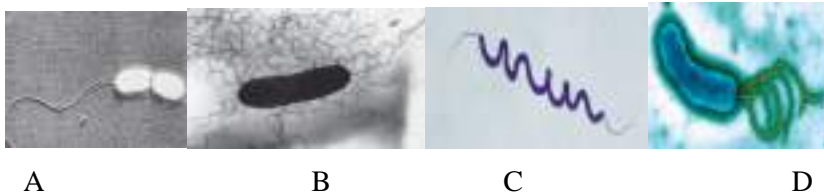
Gambar 3.14: Mikrograf kapsul pada bakteri berbentuk batang. Kapsul ditunjukkan dengan lingkaran cahaya bening di sekitar sel bentuk batang (Hughes & Smith, 2007).

Fimbria adalah serabut halus pendek seperti bulu yang tersusun oleh protein lektin atau adhesin yang keluar dari seluruh permukaan sel. Jumlahnya dapat mencapai beberapa hingga ratusan per sel. Fimbria berfungsi sebagai alat perlekatan sel satu sama lain atau perlekatan sel pada suatu permukaan solid atau cair termasuk permukaan jaringan makhluk hidup. Perlekatan ini berkaitan dengan patogenisitas suatu bakteri dan pembentukan biofilm bakteri pada suatu permukaan (Madigan et al., 2019). Fimbria pada bakteri *Neisseria gonorrhoeae* penyebab penyakit gonore berperan dalam aktivitas pembentukan kolonisasi pada jaringan genitourinari yang akhirnya bakteri menjadi virulen sehingga menyebabkan penyakit. Begitu pula fimbria pada bakteri *Escherichia coli* O157 yang berperan dalam penempelan bakteri pada mikrofilus kecil dan menyebabkan diare (Gambar 3.15). Sifat virulensi bakteri ini akan hilang ketika fimbria tidak ada dan tidak terjadi kolonisasi (Talaro & Chess, 2012).



Gambar 3.15: Fimbria. (a) Perbedaan struktur fimbria, pili, dan flagel. (b) Fimbria sebagai alat perlekatan dan pembentukan kolonisasi bakteri *E. coli* pada permukaan mikrovili usus halus (Talaro & Chess, 2012).

Flagel merupakan filamen panjang (mengandung protein flagelin) yang mencuat dari sel dan berfungsi untuk pergerakan sel (alat lokomotif sel). Ukuran panjangnya beberapa kali lebih panjang dari selnya. Berdasarkan jumlah dan letak tumbuhnya flagel dibedakan menjadi 4 tipe yaitu monotrik, lofotrik, amfitrik, dan peritrik (Gambar 3.16). Contoh bakteri yang memiliki flagel yaitu *Escherichia coli* dan *Rhodospirillum centenum*.



Gambar 3.16: Mikrograf mikroskop elektron pada flagel bakteri. (a) monotrik (b) peritrik (c) amfitrik (d) lofotrik (Tortora, Funke & Case, 2013; Carroll et al., 2016; Madigan et al., 2019).

Pili (tunggal: pilus) memiliki struktur mirip fimbria tetapi sedikit lebih panjang ukurannya dari fimbria. Struktur pili panjang, tubular rigid dan tersusun oleh protein pilin. Umumnya pili berjumlah satu atau hanya beberapa saja pada setiap sel. Berdasarkan struktur dan fungsinya pili dibedakan menjadi dua tipe yaitu pili seks dan pili tipe IV. Pili seks terlibat dalam proses transfer materi genetik (pertukaran materi genetik) dari satu sel ke sel lain. Proses ini disebut sebagai konjugasi (Gambar 3.17). Konjugasi dapat terjadi pada sesama sel bakteri Gram negatif yang kompatibel (Talaro & Chess, 2012). Pili tipe IV tidak hanya berfungsi dalam adhesi patogen pada jaringan inang namun juga mendukung gerakan menyentak (twitching motility) yang tidak biasa pada spesies tertentu contohnya bakteri *Pseudomonas* dan *Moraxella*. Sel dapat meluncur dengan gerakan menyentak di atas permukaan

lembut dan permukaan padat dengan cara memanjangkan kemudian menarik kembali pili dalam gerakan berulang. Pili tipe IV juga berperan sebagai faktor kunci kolonisasi bakteri patogen contohnya pada *Vibrio cholerae* (penyebab penyakit kolera), *Neisseria gonorrhoeae* (penyebab penyakit gonore), dan *Streptococcus pyogenes* (penyebab penyakit demam scarlet) (Madigan et al., 2019).



Gambar 3.17: Proses konjugasi menggunakan pili seks pada dua sel bakteri *Escherichia coli* (Madigan et al., 2019).

Bab 4

Nutrisi Bakteri

4.1 Pendahuluan

Nutrisi didefinisikan sebagai seluruh aspek yang menyangkut fisiologi substansi yang diperlukan untuk biosintesis dan pembentukan energi pada makhluk hidup. Substansi yang diperlukan tersebut disebut sebagai nutrien. Seperti halnya semua organisme hidup, bakteri membutuhkan nutrisi dan faktor pertumbuhan (growth factor) tertentu untuk keberlangsungan hidupnya. Kebutuhan nutrisi dan faktor pertumbuhan berperan dalam mempertahankan proses metabolisme serta pembelahan dalam sel bakteri. Akan tetapi, kebutuhan akan nutrien dan faktor pertumbuhan dari bakteri cukup bervariasi karena mereka memiliki kemampuan adaptasi dan metabolisme yang berbeda antar spesies (Tadesse & Alem, 2006; Cappucino & Sherman, 2014).

4.2 Nutrien dan Faktor Pertumbuhan (Growth Factor)

Berdasarkan kebutuhannya, nutrien dibedakan menjadi dua macam, yaitu makronutrien dan mikronutrien (trace elements). Makronutrien merupakan

elemen-elemen nutrisi yang diperlukan dalam jumlah banyak (gram), sedangkan mikronutrien diperlukan dalam jumlah sedikit (mg atau ppm). Makronutrien meliputi karbon (C), oksigen (O), hidrogen (H), nitrogen (N), sulfur (S), fosfor (P), kalium (K), natrium (Na), magnesium (Mg), kalsium (Ca), dan besi (Fe); sedangkan mikronutrien meliputi mangan (Mn), zinc (Zn), tembaga (Cu), nikel (Ni), kobalt (Co), dan molibdenum (Mo) (Hogg, 2005; Pratiwi, 2008; Hafsan, 2014).

Berikut kita bahas peran tiap nutrisi bagi sel bakteri.

1. Karbon

Karbon merupakan makronutrien yang paling banyak ditemukan pada sel hidup karena karbon menyusun seluruh makromolekul, yaitu karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat. Karbon berperan dalam jalur biosintesis yang dapat diperoleh melalui sumber organik atau pun anorganik.

2. Nitrogen

Nitrogen diperlukan untuk sintesis asam nukleat dan protein, termasuk juga untuk pembentukan ATP (molekul sumber energi bagi sel). Protein berfungsi sebagai molekul struktural dan fungsional yang menyusun sel. Salah satu contoh protein yang paling penting dalam metabolisme adalah enzim yang bertanggungjawab terhadap aktivitas sel. Contoh asam nukleat adalah DNA dan RNA yang merupakan dasar genetik kehidupan sel dan sebagai cetakan dalam sintesis protein.

Bakteri memiliki kebutuhan yang beragam akan nitrogen, dari yang mampu mengasimilasi gas N_2 hingga yang membutuhkan dalam bentuk asam amino. Selain itu, ada juga bakteri yang mampu mengasimilasi nitrogen dari sumber anorganik seperti nitrat, dan ada yang mampu memanfaatkan garam amonium atau urea sebagai sumber nitrogennya.

3. Hidrogen

Hidrogen juga merupakan komponen utama dalam makromolekul biologis dan berperan dalam proses pembentukan energi bagi bakteri.

4. Oksigen

Oksigen merupakan sumber utama respirasi bakteri. Akan tetapi, bagi mikroorganisme anaerob, oksigen dapat menjadi toksik. Oksigen dibutuhkan bagi bakteri untuk sintesis makromolekul dari air.

5. Elemen non logam: Sulfur dan Fosfor

Sulfur diperlukan untuk sintesis protein dan vitamin. Beberapa sulfur juga terlibat dalam respirasi sel dan fotosintesis. Sumber sulfur dapat berasal dari asam amino yang mengandung sulfur (metionin, sistein), sulfat, dan sulfida.

Fosfor diperlukan dalam pembentukan asam nukleat DNA dan RNA, serta untuk sintesis senyawa organik berenergi tinggi Adenosin Tri Fosfat (ATP) yang berperan sebagai sumber energi seluler. Fosfor umumnya dimanfaatkan dalam bentuk garam fosfat.

6. Elemen logam: mikronutrien

Kelompok mikronutrien umumnya berupa logam seperti tembaga dan magnesium. Mikronutrien ini dibutuhkan sebagai kofaktor dalam reaksi enzim. Kofaktor adalah komponen non protein pada enzim (umumnya ion logam). Meskipun diperlukan dalam jumlah sedikit, namun ion-ion logam ini diperlukan untuk melakukan aktivitas seluler yang efisien. Beberapa aktivitas tersebut adalah osmoregulasi, regulasi aktivitas enzim, dan transpor elektron selama bio-oksidasi.

Berikut ringkasan peran makronutrien dan mikronutrien dalam sistem biologis makhluk hidup (Tabel 4.1).

Tabel 4.1: Elemen yang ditemukan pada Mahluk Hidup (Hogg, 2005)

Elemen	Bentuk umum yang tersedia	Peran dalam sistem biologis
Makronutrien		
Karbon (C)	CO ₂ , senyawa organik	Komponen berbagai molekul organik
Nitrogen (N)	NH ₃ , NO ₃ ⁻ , N ₂ , senyawa N organik	Komponen protein dan asam nukleat
Hidrogen (H)	H ₂ O, senyawa organik	Komponen molekul biologis, H ⁺ dilepaskan oleh asam
Oksigen (O)	O ₂ , H ₂ O, senyawa organik	Komponen molekul biologis, diperlukan dalam metabolisme aerob

Elemen	Bentuk umum yang tersedia	Peran dalam sistem biologis
Makronutrien		
Sulfur (S)	H ₂ S, SO ₄ ²⁻ , senyawa S organik	Komponen protein dan sebagai sumber energi bagi beberapa bakteri tertentu
Fosfor (P)	PO ₄ ³⁻	Ditemukan pada asam nukleat, ATP, dan fosfolipid
Kalium (K)	Dalam larutan sebagai K ⁺	Ion intraseluler yang penting
Natrium (Na)	Dalam larutan sebagai Na ⁺	Ion ekstraseluler yang penting
Kalsium (Ca)	Dalam larutan sebagai Ca ²⁺	Regulator proses seluler
Magnesium (Mg)	Dalam larutan sebagai Mg ²⁺	Koenzim
Besi (Fe)	Dalam larutan sebagai Fe ²⁺ atau Fe ³⁺ atau FeS, Fe(OH) ₃ dll	Membawa oksigen dan sebagai sumber energi bagi beberapa bakteri tertentu
Mikronutrien		
Mangan (Mn)	Dalam larutan sebagai Mn ²⁺	Koenzim
Zinc (Zn)	Dalam larutan sebagai Zn ²⁺	Koenzim, inhibitor pertumbuhan mikrob
Tembaga (Cu)	Dalam larutan sebagai Cu ²⁺ , Cu ⁺	Koenzim, inhibitor pertumbuhan mikrob
Nikel (Ni)	Dalam larutan sebagai Ni ²⁺	Koenzim
Kobalt (Co)	Dalam larutan sebagai Co ²⁺	Vitamin B ₁₂
Molibdenum (Mo)	Dalam larutan sebagai Mo ²⁺	Koenzim

7. Faktor Pertumbuhan (Growth Factor)

Faktor pertumbuhan adalah komponen organik yang diperlukan untuk pertumbuhan sel yang tidak mampu disintesis sendiri oleh sel bakteri. Faktor pertumbuhan dibagi menjadi tiga kelompok utama, yaitu asam amino (diperlukan dalam sintesis protein), purin dan pirimidin (yang diperlukan dalam sintesis asam nukleat), serta vitamin (Tabel 4.2).

Vitamin merupakan senyawa organik kompleks yang dibutuhkan dalam jumlah kecil untuk pertumbuhan dan fungsi sel normal. Vitamin dapat berupa koenzim atau prekursornya yang diperlukan untuk pembentukan sistem enzim aktif. Kebutuhan vitamin bagi bakteri cukup bervariasi, dan kebanyakan bakteri mampu mensintesis vitamin sendiri sehingga dapat memenuhi kebutuhan faktor pertumbuhannya secara mandiri. Contoh vitamin yang diperlukan

adalah niasin, piridoksin, dan riboflavin (Hogg, 2005; Santos Júnior et al., 2022) (Tabel 4.2).

Tabel 4.2: Beberapa Faktor Pertumbuhan (Hogg, 2005; Santos Júnior et al., 2022)

	Faktor Pertumbuhan	Peran
1.	Asam amino	Komponen protein
2.	Purin dan pirimidin	Komponen asam nukleat
3.	<i>p</i> -asam aminobenzoat	Prekursor asam folat, terlibat dalam sintesis asam nukleat
4.	Niasin (asam nikotinat)	Prekursor NAD ⁺ dan NADP ⁺
5.	Piridoksin (Vitamin B ₆)	Sintesis asam amino
6.	Riboflavin (Vitamin B ₂)	Prekursor FAD

4.3 Kategori Nutrisi

Bakteri dapat dikategorikan berdasarkan kebutuhan energi, sumber elektron, dan sumber karbon. Energi diperlukan oleh sel untuk menjalankan aktivitas metabolisme seluler, seperti transpor aktif, biosintesis, dan biodegradasi makromolekul.

Berdasarkan sumber energinya, ada dua jenis mikroorganisme bioenergetik:

1. Fototrof: menggunakan energi radiasi (cahaya matahari) sebagai sumber energi satu-satunya.
2. Kemotrof: sumber energi berasal dari senyawa kimia. Beberapa bakteri menggunakan molekul organik seperti glukosa, sedangkan bakteri lain memanfaatkan senyawa anorganik seperti H₂S atau NaNO₂.

Selain berdasarkan kebutuhan sumber energi, kategorisasi bakteri dapat dibagi berdasarkan kebutuhan komponen yang berperan sebagai sumber elektron (tereduksi) untuk menghasilkan energi.

Kategorisasi ini terbagi menjadi dua, yaitu:

1. Litotrof: menggunakan komponen anorganik tereduksi sebagai sumber elektron seperti H₂O, H₂S, atau amonia.

2. Organotrof: menggunakan komponen organik tereduksi sebagai sumber elektron.

Kategorisasi bakteri berdasarkan sumber karbon yang diperlukan dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu:

1. Autotrof: bakteri ini dapat memanfaatkan karbon yang berasal dari karbon anorganik, seperti karbon dioksida.
2. Heterotrof: bakteri ini membutuhkan sumber karbon dalam bentuk organik, seperti glukosa.

Berdasarkan kategori-kategori di atas, kebanyakan bakteri memiliki tipe nutrisi kemoorganotrof-heterotrof (seperti pada *Escherichia coli* dan bakteri umum lainnya), namun ada juga yang memiliki tipe fotolitotrof-autotrof (*Cyanobacteria* dan bakterie ungu sulfur), kemolitotrof-autotrof (*Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*), atau kemolitotrof-heterotrof (bakteri pengoksidasi sulfur seperti *Xanthobacter*) (Koops & Pommerening-Röser, 2001; Hogg, 2005; Madigan & Jung, 2009; Vidyalakshmi et al., 2009; Lau et al., 2015; Rashid et al., 2022). Berikut beberapa contoh bakteri dengan tipe nutrisi yang berbeda-beda (Tabel 4.3).

Tabel 4.3: Kategorisasi Beberapa Bakteri Berdasarkan Sumber Energi, Sumber Elektron, dan Sumber Karbon

<i>Contoh Bakteri</i>	<i>Sumber Energi</i>		<i>Sumber Elektron</i>		<i>Sumber Karbon</i>	
	<i>Fototrof</i>	<i>Kemotrof</i>	<i>Litotrof</i>	<i>Organotrof</i>	<i>Autotrof</i>	<i>Heterotrof</i>
<i>Escherichia coli</i>		X glukosa		X glukosa		X glukosa
<i>Cyanobacteria</i> (alga biru-hijau)	X		X H_2O		X CO_2	
bakteri ungu sulfur (<i>Chromatium</i> , <i>Allochromatiium</i> , <i>Thiocapsa</i>)	X		X H_2S		X CO_2	
<i>Rhodospirillum</i> (bakteri ungu non-sulfur)	X			X asam lemak		X asam benzoat, asam

Contoh Bakteri	Sumber Energi		Sumber Elektron		Sumber Karbon	
	Fototr of	Kemotro f	Litotr of	Organotr of	Autotrof	Heterotr of
						lemak, alkohol
<i>Nitrosomonas</i> (bakteri nitrifikasi)		X	X NH ₃		X CO ₂ , hidrokarbon	
<i>Nitrobacter</i> (bakteri nitrifikasi)		X	X NO ₂		X CO ₂ , hidrokarbon	
<i>Thiobacillus</i> , beberapa spesies <i>Thiomicrospira</i> (bakteri pengoksidasi sulfur)		X sulfida, sulfur, thiosulfida	X		X CO ₂	
<i>Xanthobacter</i> , <i>Thiosphaera</i> , beberapa spesies <i>Thiobacillus</i> dan <i>Thiomicrospira</i> (bakteri pengoksidasi sulfur)		X sulfida, sulfur, thiosulfida	X			X

Bakteri secara umum merupakan mikroorganisme dengan tipe nutrisi kemoorganotrof-heterotrof seperti pada *Escherichia coli*. Bakteri ini menggunakan sumber energi, sumber elektron, dan sumber karbonnya dari karbon organik seperti glukosa untuk metabolisme dan pertumbuhannya (Hogg, 2005; Briški & Vuković Domanovac, 2017).

Cyanobacteria merupakan kelompok bakteri yang spesial karena memiliki klorofil dan mampu melakukan fotosintesis seperti alga. Karena kemiripan ini, *Cyanobacteria* kerap disebut sebagai alga biru-hijau. Akan tetapi, struktur sel prokariotik yang dimiliki *Cyanobacteria* membuatnya lebih cocok untuk masuk ke dalam klasifikasi Bacteria. *Cyanobacteria* mampu menggunakan

sumber karbon anorganik dan sumber cahaya matahari untuk melakukan fotosintesis dengan dibantu air sebagai sumber elektronnya. Kategori ini membuat Cyanobacteria memiliki tipe nutrisi fotolitotrof-autotrof. Beberapa contoh Cyanobacteria yang cukup dikenal adalah Anabaena, Nostoc, dan Spirulina (Vermaas, 2001; Lau et al., 2015).

Bakteri ungu sulfur merupakan bakteri Gram-negatif fotosintetik yang mampu mengubah cahaya matahari menjadi energi kimia melalui proses fotosintesis anoksigenik (tanpa ada oksigen). Bakteri ungu memiliki pigmen fotosintetik, yaitu bakterioklorofil dan karotenoid. Bakteri ini bersifat autotrof karena dapat menggunakan CO₂ sebagai sumber karbon satu-satunya. Bakteri ungu banyak ditemukan pada perairan seperti danau, kolam, atau muara yang banyak mengandung H₂S. Hal ini menjadikan bakteri ungu memanfaatkan H₂S sebagai sumber elektronnya. Oleh sebab itu, bakteri ungu sulfur umumnya memiliki tipe nutrisi fotolitotrof-autotrof. Akan tetapi, ada beberapa bakteri ungu sulfur juga dapat bersifat kemo-organotrof atau kemo-litotrof dikarenakan mampu hidup pada tempat yang gelap sehingga tidak dapat menggunakan cahaya matahari sebagai sumber energinya, sebagai contoh spesies dari *Allochromatium* dan *Thiocapsa* (Madigan & Jung, 2009; Vidyalakshmi et al., 2009).

Bakteri ungu non-sulfur umumnya bersifat fotoheterotrof dengan memanfaatkan senyawa organik sebagai sumber karbon, seperti asam organik, asam amino, asam lemak, alkohol, dan amonia sebagai sumber nitrogen. Selain itu, bakteri ini juga mampu memanfaatkan senyawa organik berupa polutan seperti asam benzoat dan nitrofenol untuk fotosintesis. Bakteri ungu non-sulfur diketahui sebagai bakteri yang mampu beradaptasi terhadap perubahan lingkungan, sehingga dalam kondisi lingkungan yang berbeda, mungkin saja bakteri ini mengubah tipe nutrisinya dari fotoheterotrof menjadi kemolitotrof. Sebagai contoh, dalam kondisi gelap bakteri ungu non-sulfur dapat memanfaatkan H₂ atau S₂O₃²⁻ sebagai sumber elektronnya (Madigan & Jung, 2009; Rashid et al., 2022).

Nitrosomonas dan *Nitrobacter* dikenal sebagai bakteri nitrifikasi, yaitu bakteri yang dapat melakukan oksidasi amonia menjadi nitrit atau nitrat. Bakteri ini bersifat litoautotrof dengan memanfaatkan oksidasi senyawa nitrogen anorganik sebagai sumber energi dan sumber elektronnya, terutama amonium. Sebagai sumber karbon, bakteri ini banyak menggunakan CO₂ dan juga dilaporkan mampu memanfaatkan berbagai substrat hidrokarbon. *Nitrosomonas* merupakan bakteri litoautotrof pengoksidasi amonia

(menghasilkan nitrit dari amonia), sedangkan *Nitrobacter* bersifat litoautotrof pengoksidasi nitrit (menghasilkan nitrat dari nitrit) (Deni & Penninckx, 1999; Koops & Pommerening-Röser, 2001; Hastuti et al., 2019).

Sulfur merupakan salah satu makronutrien esensial untuk pertumbuhan makhluk hidup. Salah satu peran sulfur adalah sebagai penyusun protein (Nelson & Cox, 2004). Bakteri pengoksidasi sulfur merupakan bakteri yang dapat memanfaatkan sulfur dalam bentuk organik maupun anorganik untuk menghasilkan energi bagi metabolisme dan pertumbuhannya (Kamil, 2008; Vidyalakshmi et al., 2009). Bakteri pengoksidasi sulfur umumnya merupakan bakteri Gram-negatif seperti *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, dan *Xanthobacter*. Bakteri ini merupakan bakteri kemolitotrof yang memanfaatkan sulfur teroksidasi sebagai sumber energi dan sumber elektronnya. Berdasarkan sumber karbonnya, bakteri ini terbagi dua, yaitu tipe autotrof yang hanya menggunakan CO₂ sebagai sumber karbonnya dan tipe heterotrof yang menggunakan karbon organik sebagai sumber karbonnya. Contoh bakteri pengoksidasi sulfur kemolitotrof-autotrof adalah *Thiobacillus* dan beberapa spesies *Thiomicrospira*, sedangkan bakteri pengoksidasi sulfur kemolitotrof-heterotrof adalah *Xanthobacter*, *Thiosphaera*, beberapa spesies *Thiobacillus* dan *Thiomicrospira* (Vidyalakshmi et al., 2009; Kazemi et al., 2021).

4.4 Transportasi Nutrien

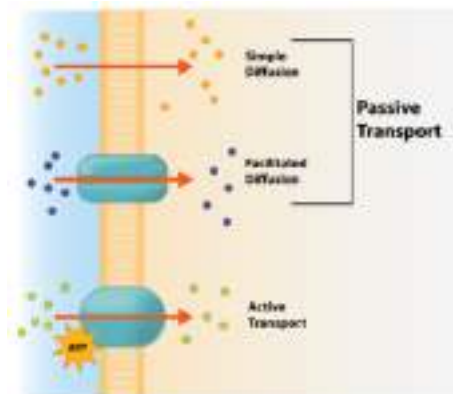
Setelah mengetahui sumber nutrien yang diperlukan, bakteri harus memiliki cara untuk mengambil nutrien tersebut dari lingkungan dan memiliki sistem enzim yang tepat untuk memanfaatkannya. Sistem ini dikenal dengan sistem transportasi pada sel (Purves et al., 2003; Brooks et al., 2007).

Nutrien yang diambil dari lingkungan harus melalui membran sel yang bersifat selektif permeabel. Sistem transportasi nutrien melalui membran sel dapat dilakukan melalui tiga cara, yaitu difusi sederhana, difusi terfasilitasi, dan transpor aktif (Gambar 4.1) (Mignot & Shaevitz, 2008; Möller et al., 2019; Bohrer & Xiao, 2020).

1. Difusi sederhana: perpindahan molekul dari kerapatan tinggi ke kerapatan rendah hingga diperoleh konsentrasi yang seimbang antara dalam sel dan luar sel. Transpor ini terbatas untuk zat kecil atau pun

yang larut dalam lipid, seperti gliserol, H₂O, O₂, dan CO₂ (Bohrer & Xiao, 2020).

2. Difusi terfasilitasi: difusi yang memerlukan bantuan protein, sebagai contoh permease yang membantu transpor laktosa ke dalam sel *Escherichia coli* (Hogg, 2005).
3. Transpor aktif: transpor yang memerlukan energi karena bersifat melawan gradien konsentrasi. Energi yang digunakan adalah ATP. Selain itu, transpor aktif juga memerlukan protein pembawa (carrier protein) (Bruslind, 2023).



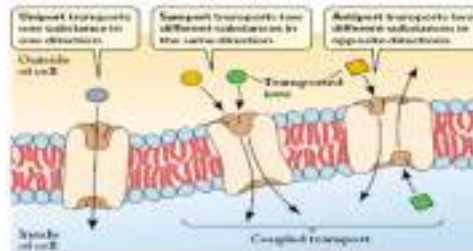
Gambar 4.1: Sistem Transportasi Nutrien pada Bakteri (Bruslind, 2023)

4.4.1 Tipe-tipe Transpor Aktif

Transpor aktif melibatkan tiga protein transporter, yaitu (Purves et al., 2003):

1. Uniport: protein transporter yang memindahkan satu larutan dalam satu arah.
2. Symport: protein transporter yang memindahkan dua larutan pada arah yang sama.
3. Antiport: protein transporter yang memindahkan dua larutan dengan arah yang berlawanan, satu ke dalam sel, lainnya ke luar sel.

Symport dan antiport dikenal sebagai transporter berpasangan (coupled transporter) karena dapat memindahkan dua larutan dalam waktu bersamaan (Gambar 4.2).

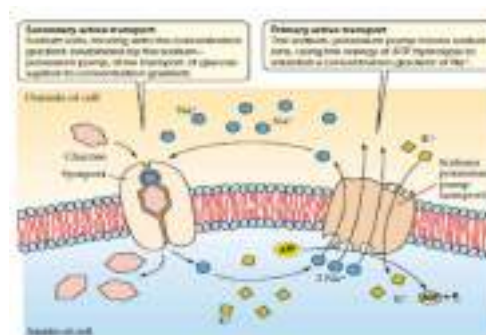


Gambar 4.2: Tiga tipe Protein Transporter pada Membran Sel (Purves et al.)

Pada Gambar 4.2 tampak bahwa tipe uniport memasukkan satu zat secara satu arah dari luar sel ke dalam sel. Tipe symport digambarkan dengan memasukkan dua zat berbeda secara bersamaan ke dalam sel dengan arah yang sama. Tipe antiport digambarkan dengan terjadinya transportasi dua zat yang berbeda melalui arah yang berlawanan (satu zat dari arah luar sel ke dalam sel, sedangkan zat lain dari dalam sel ke luar sel).

Ada dua tipe dasar proses transpor aktif (Gambar 4.3) (Purves et al., 2003):

1. Transpor aktif primer: memerlukan peran ATP secara langsung.
2. Transpor aktif sekunder: tidak menggunakan ATP secara langsung, akan tetapi energinya disuplai oleh gradien konsentrasi ion yang dibentuk oleh transpor aktif primer.



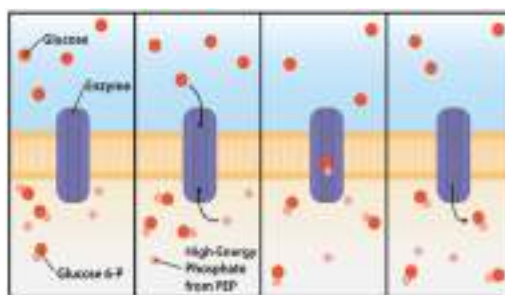
Gambar 4.3: Dua Tipe Transpor Aktif (Purves et al., 2003)

Sistem transpor aktif primer pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa pompa natrium-kalium menggerakkan ion natrium, menggunakan energi hidrolisis ATP untuk membentuk gradien konsentrasi Na^+ . Transpor aktif sekunder menggambarkan bahwa ion natrium, bergerak dengan gradien konsentrasi yang ditentukan oleh pompa natrium-kalium, mendorong transpor glukosa melawan gradien konsentrasinya.

4.4.2 Transportasi Khusus: Translokasi Kelompok & Pengambilan Besi

Selain sistem transpor di atas, sel bakteri memiliki sistem transpor khusus yang disebut group translocation (translokasi kelompok) dan iron uptake (pengambilan besi) (Brooks et al., 2007; Bruslind, 2023).

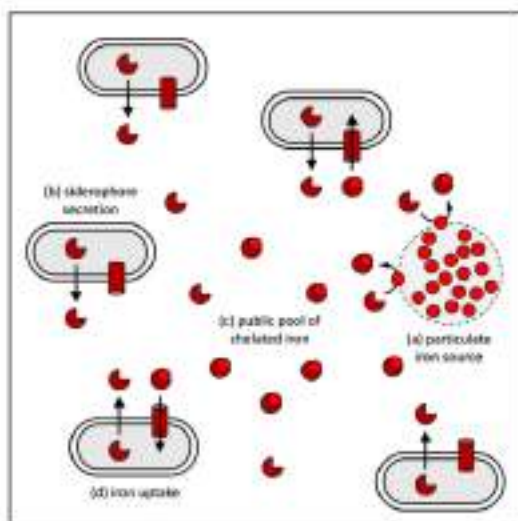
Translokasi kelompok. Proses ini merupakan proses di mana zat terlarut secara kimia dimodifikasi saat akan melewati membran sel. Energi yang digunakan merupakan energi dari senyawa organik yang bukan ATP. Salah satu contoh translokasi kelompok adalah sistem fosfotransferase pada *E. coli* untuk memasukkan glukosa ke dalam sel (Gambar 4.4).



Gambar 4.4: Translokasi Kelompok melalui Sistem Fosfotransferase (Bruslind, 2023)

Sistem fosfotransferase (PTS = Phosphotransferase System) menggunakan energi yang berasal dari molekul berenergi tinggi fosfoenolpiruvat (PEP = phosphoenolpyruvate) untuk mengantarkan gula ke dalam sel. Fosfat ditransfer dari PEP ke gula yang masuk selama proses transportasi (Gambar 4.4). Protein pembawa pada membran sel terfosforilasi dalam sitoplasma dengan melepaskan PEP. Protein pembawa yang terfosforilasi selanjutnya mengikat gula bebas pada permukaan membran luar dan mengangkutnya ke dalam sitoplasma, lalu melepaskannya sebagai gula-fosfat (Brooks et al., 2007).

Pengambilan besi. Besi diperlukan oleh mikroorganisme untuk fungsi sitokrom dan enzim, sehingga menjadi mikronutrien yang penting bagi pertumbuhan mikroorganisme. Akan tetapi, ketersediaan besi bebas di lingkungan sangat sedikit dikarenakan sifatnya yang tidak mudah larut. Berdasarkan hal tersebut, banyak bakteri yang mengembangkan siderofor, yaitu molekul organik yang mengelat atau mengikat besi dengan afinitas yang tinggi. Siderofor dilepaskan oleh bakteri ke lingkungan sekitarnya, di mana mereka akan mengikat besi-besi yang tersedia. Kompleks besi-siderofor kemudian diikat oleh reseptor spesifik di luar sel, memungkinkan besi diangkut ke dalam sel (Gambar 4.5) (Hider & Kong, 2010; Saha et al., 2013; Bruslind, 2023; Kümmerli, 2023).



Gambar 4.5: Siderofor dan Pengambilan Besi (Kümmerli, 2023)

(a) sumber besi partikulat (b) bakteri mensekresi siderofor ke luar sel (c) siderofor yang dilepaskan mengikat materi-materi besi di lingkungan membentuk kompleks besi-siderofor (d) kompleks besi-siderofor berikatan dengan reseptor spesifik di permukaan sel, lalu besi diangkut ke dalam sel.

Bab 5

Pertumbuhan Dan Perkembangan Bakteri

5.1 Pendahuluan

Pertumbuhan merupakan proses penambahan teratur semua komponen organisme. Pertumbuhan menyebabkan peningkatan kapasitas masing-masing individu. Pertumbuhan biasanya terkait keadaan bahan makanan serta lingkungan yang akan memengaruhi penyempurnaan pertumbuhan tersebut. Tipe pertumbuhan terbagi atas 2 yaitu pemisahan inti yang tidak diikuti dengan pemisahan sel sehingga akan menghasilkan peningkatan ukuran sel dan pemisahan inti bersama dengan pemisahan sel

Tipe pertumbuhan bakteri:

1. Pembelahan inti tanpa diikuti pembelahan sel sehingga dihasilkan peningkatan ukuran sel (mikroorganisme koenositik).
2. Pembelahan inti disertai dengan pembelahan sel sehingga diikuti peningkatan jumlah sel dan pembesaran diikuti pembelahan membentuk dua progeni yang kurang lebih berukuran sama. (Hamdiyati, 2011).

5.2 Faktor Pertumbuhan dan Perkembangan Bakteri

5.2.1 Fisik

1. Suhu (temperatur)

Pada pertumbuhan bakteri suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang sangat berpengaruh. Masing-masing bakteri memiliki suhu optimum tertentu untuk perkembangannya. Berdasarkan suhu optimum untuk perkembangan maka bakteri dibagi menjadi tiga kelompok, yakni:

- a. Psiko Bakteri, di mana bakteri ini memiliki suhu pertumbuhan bervariasi antara 0 sampai 20 °C di mana diisolasi dari habitat arktik dan antartik.
- b. Mesofil, yaitu bakteri yang memiliki suhu pertumbuhan bervariasi antara 20 hingga 45°C, hampir semua bakteri patogen akan tumbuh pada suhu ini
- c. Bakteri termofilik, yaitu bakteri yang memiliki suhu pertumbuhan lebih dari 45°C, di mana enzim dan protein sintesis berfungsi pada temperatur tinggi.

Sebagian besar bakteri pembusuk makanan adalah mesofil, artinya mereka tumbuh dengan baik pada temperatur ruangan. Bakteri patogen biasanya memiliki temperatur optimal sekitar 37 °C, sama dengan suhu tubuh manusia. Oleh karena itu, berbagai jenis bakteri patogen akan tumbuh lebih baik. Bakteri patogen dan perusak umumnya dapat tumbuh pada suhu berkisar antara 4 hingga 66°C. (Respati, 2017).

2. PH

pH Optimum untuk bakteri tumbuh baik berada pada pH 4,6 – 7,0 sedangkan jamur tumbuh pada pH yang lebih rendah. Bakteri asidofil tumbuh pada pH 6,5 – 7,0, Bakteri Mesofil tumbuh pada pH 7,5 – 8,0 dan Bakteri alkalofil tumbuh pada pH 8,4 – 9,0. (Respati, 2017).

3. Tekanan osmotik

Tekanan osmotik akan berdampak pada bakteri bila tekanan osmotik lingkungan makin besar (hipertonis) sel akan menghadapi plasmolisis, kebalikannya bila tekanan osmotik lingkungan hipotonis akan berdampak sel membengkak dan menimbulkan sel menjadi rusak. Karena sebab itu dalam menjaga kehidupannya, sel bakteri hendaklah berada pada tekanan yang sesuai, meskipun sel bakteri mempunyai daya penyesuaian lingkungan,. Air merupakan komponen penting untuk pertumbuhan bakteri (80- 90), air dalam konsentrasi yang cukup (tinggi) disekitarnya seperlunya untuk mempertahankan pertumbuhan dan reproduksi, misalnya bakteri dalam Dalam larutan dengan konsentrasi lebih tinggi dari pada dalam sel bakteri, pelepasan cairan bakteri melintasi membran sitoplasma disebut plasmolisis. Garam anorganik diperlukan untuk mempertahankan keadaan koloidal dan tekanan osmotik di dalam sel, untuk memelihara keseimbangan asam – basa, berfungsi sebagai bagian enzim atau aktivator reaksi enzim. Dibandingkan dengan Mineral Sel hidup membutuhkan sejumlah mineral untuk tumbuh (Hamdiyati, 2011).

4. Oksigen

Dalam proses respirasi bakteri diperlukan oksigen. Bakteri diklasifikasikan menjadi tiga kelompok berdasarkan kebutuhan oksigennya, yakni:

- a. Bakteri aerob memerlukan oksigen untuk proses pertumbuhannya
- b. Bakteri anaerob ini berbeda dengan bakteri aerob, bakteri ini justru tidak dapat tumbuh jika ada oksigen.
- c. Bakteri Anaerob fakultatif ini dapat tumbuh di zona dengan atau tanpa oksigen. (Wardhani, 2020).

5. Radiasi

Bakteri dalam proses fotosintesisnya memerlukan sinar radiasi. Beraneka ragam sinar dalam mematikan bakteri yakni sinar matahari, sinar x, sinar ultraviolet. Sinar matahari sangat berguna bagi kehidupan manusia terutama dalam membunuh bakteri penyakit, contagion, jamur. (Adji, 2007).

5.2.2 Kimia

1. Nutrisi

Semua bentuk kehidupan memiliki kesamaan dalam kebutuhan nutrisinya berupa bahan kimia yang wajib untuk perkembangan dan aktivitas lainnya. Bakteri memerlukan nutrisi sebagai asal energi bagi perkembangan sel, fosfor, besi dan sejumlah kecil logam lainnya. Ketiadaan atau kekurangan asal nutrisi ini dapat berpengaruh pada perkembangan bakteri dan akhirnya akan menyebabkan kematian. Keadaan lingkungan yang kotor, tidak sehat merupakan kondisi yang memberikan nutrisi untuk mikroorganisme untuk tumbuh mengakibatkan mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembang pada lingkungan seperti ini. Kebutuhan sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri, yaitu:

- a. Bakteri memerlukan energi yang berasal dari sinar (fototrof) dan unsur kimia (kemotrof).
- b. Bakteri memerlukan karbon anorganik (karbon dioksida) dan karbon organik (misalnya karbohidrat).
- c. Bakteri memerlukan nitrogen berupa garam nitrogen anorganik (kalium nitrat) dan nitrogen organik (dalam bentuk protein dan asam amino).
- d. Bakteri membutuhkan banyak unsur logam (seperti kalium, natrium, magnesium, besi, tembaga).
- e. Bakteri membutuhkan air yang berguna untuk proses metabolisme dan pertumbuhannya. (Hamdiyati, 2011).

2. Media Kultur

Media kultur merupakan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media yang cocok diperlukan untuk pertumbuhan bakteri di laboratorium. Berdasarkan konsistensinya media dibagi menjadi dua macam yakni media cair dan media padat sedangkan berdasarkan kandungan nutrisinya media dibagi berbagai macam yakni: Defined media, Media kompleks, Media umum, Media penyubur, Media selektif, Media diferensial dan Media khusus.

5.3 Fase Pertumbuhan dan Perkembangan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dibagi menjadi empat kurva utama yakni: fase lag (fase lambat atau fase tertinggal), fase pertumbuhan eksponensial (fase pertumbuhan cepat atau fase logaritmik), fase stasioner (fase stasioner atau fase stasioner) dan fase penurunan populasi (penurunan). Tahapan ini menunjukkan kondisi bakteri pada media pengembangbiakan. Masing-masing fase mempunyai masa pergantian sebelum seluruh sel memasuki fase baru. (Hamdiyati, 2011).

5.3.1 Fase lag

Pada Fase ini bakteri akan menyesuaikan dengan lingkungannya. pH, suhu, komposisi medium, jumlah sel pada kultur awal dan karakteristik fisiologis mikroorganisme yang ada pada medium sebelumnya akan memengaruhi lamanya fase lag bakteri. Setelah implantasi, ukuran sel bertambah karena sel membelah sedikit atau tidak. Pada fase ini akan terlihat dengan kenaikan komponen makromolekul, aktivitas metabolisme dan kepekaan pada faktor kimia dan fisik. Fase ini juga merupakan periode adaptasi untuk peningkatan metabolit ke kumpulan sel, yang akhirnya akan menuju sintesis sel maksimal. (Hamdiyati, 2011).

5.3.2 Fase tumbuh dipercepat (Logaritme, Eksponensial, Logaritma phase)

Pada Fase ini dapat dilihat pertumbuhan bakteri yang pesat. Sel akan membelah menjadi dua di mana fase ini dipengaruhi oleh karakteristik turunan. Sel pada fase ini berada dalam keadaan pertumbuhan setara. Saat fase ini, massa dan jumlah sel naik dengan faktor yang sama, karena susunan sel dan konsentrasi metabolit relatif seimbang. Pada masa ini laju pertumbuhannya sejajar, laju pertumbuhan dapat dinyatakan dalam fungsi eksponensial natural. Sel membelah dengan kecepatan konstan yang ditentukan oleh sifat internal bakteri dan kondisi lingkungan. Dalam hal ini, terdapat perbedaan laju pertumbuhan mikroorganisme yang berbeda.

Peningkatan ini harus diimbangi dengan banyak faktor, antara lain:

1. Faktor biologis, yaitu bentuk dan sifat tubuh dalam hubungannya dengan lingkungan yang ada serta hubungan kehidupan antar tubuh yang ada apabila jumlah jenisnya lebih dari satu.
2. Faktor abiotik, meliputi kandungan sumber nutrisi dalam lingkungan, suhu, konsentrasi oksigen, cahaya, dll. Selama periode ini, pertumbuhan yang stabil akan terpenuhi. Maka pertumbuhan eksponensial akan tercapai. Tahap ini menentukan kapasitas reproduksi mikroorganisme yang optimal.
3. Sel memiliki kesanggupan untuk hidup dan bereproduksi dengan baik. Fase de-growth akan terjadi pada ujung dari fase log sebelum mencapai fase stasioner, yang dapat dilihat dari pertambahan jumlah individu mulai berkurang atau menurun yang disebabkan oleh berbagai macam faktor, termasuk diantaranya berkurangnya sumber nutrisi.
4. Fase pertumbuhan yang lambat akan dijumpai ketika fase logaritmik sudah pada puncaknya, maka nutrisi yang berasal dari setiap sel bakteri akan menginduksi perkembangan bakteri. (Hamdiyati, 2011).

5.3.3 Fase Stationer

Fase ini terjadi bila percepatan perkembangan bakteri sama dengan percepatan kematian. Oleh karena itu, jumlah total bakteri tidak akan berubah. Keseimbangan total bakteri ini disebabkan oleh penurunan laju pembelahan sel yang disebabkan oleh penurunan kandungan nutrisi dan penumpukan produk beracun yang menghambat pembelahan sel . Fase ini diikuti oleh fase kematian yang ditandai dengan peningkatan angka kematian yang lebih besar dari pada laju pertumbuhan, sehingga menyebabkan penurunan jumlah populasi bakteri secara keseluruhan. Selama fase ini, jumlah sel yang bertahan hidup tetap seimbang selama periode waktu yang bervariasi, bergantung pada jenis bakterinya, namun pada akhirnya mengarah pada periode penurunan populasi. (Hamdiyati, 2011).

5.3.4 Fase Kematian

Fase ini di mana jumlah bakteri yang mati meningkat melampaui jumlah bakteri yang bereproduksi. Fase kematian ini ditunjukkan dengan jumlah bakteri yang mati akan banyak dan turunnya populasi secara cepat di mana factor penyebabnya adalah ketidakterediaan nutrisi dan pengumpulan produk buangan yang toksik yang berasal dari bakteri tersebut. Kondisi ini bisa berlangsung beberapa minggu tergantung spesies dan faktor lingkungan bakteri. Jika kondisi berlanjut, kemungkinan bakteri tersebut tidak dapat berfungsi kembali di lingkungan barunya. . (Hamdiyati, 2011).

5.4 Media Pertumbuhan dan Perkembangan Bakteri

Proses pertumbuhan bakteri diperlukan campuran nutris yang disebut juga dengan media. Media berguna untuk menghasilkan bakteri, media ini juga bisa bermanfaat untuk mengisolasi, menggandakan, menguji ciri fisiologis dan menghitung bakteri. Selama proses pembuatan, rak harus disterilkan dan tindakan aseptik harus diterapkan untuk mencegah kontaminasi. Medium merupakan substrat untuk pertumbuhan bakteri, menjadi padat dan transparan pada suhu inkubasi. Sedangkan lingkungan merupakan bahan nutrisi bagi bakteri untuk tumbuh di laboratorium. Beberapa teknik dasar analisis mikrobiologi yang dipelajari, antara lain: teknik transfer aseptik, teknik kemiringan agar, kekeruhan kaldu, teknik pengenceran, teknik pengecoran pelat, teknik pelat oles, teknik pelat coretan.

5.4.1 Teknik Transfer Aseptis

Sebuah Teknik pada mikrobiologi yang melibatkan bekerja secara aseptik. Pekerjaan yang steril dan aseptik sangat berguna untuk diperhatikan saat melaksanakan kerja praktek atau kegiatan riset di laboratorium mikrobiologi. Pekerjaan aseptik dilakukan tanpa adanya segala bentuk mikroorganisme hidup, termasuk endospora bakteri. Pekerjaan aseptik juga dilakukan dalam kondisi yang mencegah serangan agen infeksius yang dapat mengkontaminasi kain atau bahan steril. Teknik aseptik ini berguna dalam mencegah kontaminasi mikroorganisme yang tidak diinginkan pada kultur murni.

Sebelum melanjutkan proses produksi benih murni, seluruh peralatan yang digunakan harus steril. Instrumen steril kemudian digunakan dan ditangani dengan teknik aseptik untuk meminimalkan kemungkinan masuknya mikroorganisme lain ke dalam media kultur murni.

Dari dalam teknik transfer aseptis ada beberapa teknik yang harus dipahami yaitu:

1. Inoculating (inokulasi) dengan jarum ose.
2. Pipetting (mentransfer dengan pipet)
3. Alkohol flaming (mentransfer dengan forsep yang dibakar dengan alkohol).

Berdasarkan kandungan nutrisinya dibedakan:

1. Identifikasi media (Media sintetis) yang diketahui komposisinya, yang biasa digunakan dalam contoh penelitian: media untuk E.coli
2. Lingkungan kompleks yang lebih baik tidak dapat menentukan komponennya karena kebutuhan nutrisi OM tertentu belum ditentukan. Misalnya: Ekstrak daging, pepton (NB/NA), ekstrak ragi
3. Media massa mendukung banyak contoh pertumbuhan MO: (Kaldu Kedelai Tryptic (TSB), Agar Kedelai Tryptic (TSA)).
4. Sarana Kesuburan (Enrichment Sarana) Untuk mempercepat pertumbuhan MO tertentu. Biasanya memakai bahan atau zat yang mirip dengan lingkungan tempat OM diisolasi.
5. Media selektif (selective medium) Media tersebut mencegah tumbuhnya bakteri yang tidak diinginkan dan tumbuhnya bakteri sasaran.
6. Media diferensial digunakan untuk membedakan kelompok mikroorganisme dan bahkan dapat digunakan untuk tujuan identifikasi. (Adji, 2007).

5.4.2 Media Cair

Metode isolasi cair digunakan apabila bakteri tidak dapat hidup pada media padat. Pengenceran serial digunakan untuk metode ini berkali-kali. Semakin tinggi pengencerannya, semakin besar kesempatan memperoleh sel. (Wahyuningsih, 2017).

5.4.3 Media Padat

Untuk membuat campuran padat, zat pengental ditambahkan ke dalam larutan cair, yang memberikan kekentalan semacam gel pada cairan. Gelatin masih digunakan dengan tujuan spesifik karena meleleh pada temperatur 26-30°C dan beberapa mikroba yang bisa melelehkan gelatin. Agar adalah bahan kompresi yang sesuai. Agar merupakan jenis polisakarida yang secara struktural bertautan dan berkerabat dekat yang berasal dari alga laut. Jika dibutuhkan media kultur padat tidak dengan bagian organik, silika gel digunakan sebagai bahan pemadatan. Pembudidayaan mikroorganisme di laboratorium memerlukan media yang mengandung nutrisi dan lingkungan pertumbuhan yang sesuai bagi mikroorganisme tersebut. Nutrisi digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan, sintesis sel, kebutuhan energi untuk metabolisme dan pergerakan. Biasanya, media budidaya mengandung air sebagai sumber energi, nutrisi sebagai sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, oksigen, hidrogen, dan elemen jejak.

Media terbagi menjadi 2 golongan besar, yakni:

1. Media hidup

Media hidup umumnya dipakai dalam laboratorium virologi untuk pembiakan berbagai virus, sedangkan dalam bakteriologi hanya beberapa jenis kuman tertentu saja dan terutama hewan percobaan. Contoh media hidup antara lain: hewan percobaan (termasuk manusia), telur berembrio, biakan jaringan, dan sel-sel biakan bakteri tertentu untuk bakteriofaga.

2. Media mati

Berdasarkan konsentrasinya:

- a. Media padat: komposisi media ini adalah agar dengan konsentrasi 15 % sehingga jika setelah dingin media akan menjadi padat
- b. Media setengah padat: Komposisi agar dari media ini dengan konsentrasi 0,3-0,4% sehingga bentuknya sedikit kenyal, tidak padat, tidak begitu cair. Di mana tujuan media ini dibuat untuk:
 - membiarkan perkembangan bakteri tersebar ke seluruh media walaupun tidak akan tercampur sempurna jika dikocok. Contohnya bakteri yang ditumbuhkan di medium semi padat

bromthymol blue (N f B) tanpa nitrogen akan menghasilkan cincin yang berwarna hijau di area bawah medium.

- Untuk menghambat difusi oksigen, contohnya dalam kaldu nitrat, keadaan anaerobik atau oksigen rendah menambah metabolisme nitrat, namun bakteri ini harus hidup secara seragam di lingkungan. (Wahyuningsih, 2017).

c. Media dan reagen:

- Agar Coklat (AC)
- Kanamicin Brucella Agar + MTZ (blood agar base + kamamisin)
- Agar Darah (AD)
- Media empedu (gall)
- Media uji biokimia (aerob + anaerob)
- Agar Mac Conkey (AMC)
- NaCL fisiologis/ Air pepton steril
- Agar Muller Hinton
- Pewarna gram
- Antisera
- Trypticase Soy Agar
- Agar Brucella + MTZ
- Thioglycolate broth
- BHI broth
- Cakram faktor x; v; x dan v
- Cooked Meat Medium i. 0,3 % Methylen Blue

5.5 Macam-macam Metode Pengukuran Pertumbuhan dan Perkembangan Bakteri

5.5.1 Plate Count/Viable Cell Count

Dalam hal pemeriksaan kualitas makanan dan minuman, media ini sering digunakan di laboratorium. casein enzymic hydrolysate yang menyediakan asam amino, nitrogen kompleks, dan yeast extract yang mensuplai vitamin B kompleks merupakan komposisi dari media ini (Wahyuningsih, 2019).

5.5.2 Most Probable Number (MPN)

1. Merupakan cara yang dimanfaatkan untuk memperkirakan mikroorganisme hidup dalam sampel uji.
2. Pengenceran serial digunakan untuk pertumbuhan bakteri
3. Sering dimanfaatkan bagi sampel yang beraneka ragam, seperti:
Tanah, air, dan produk pertanian tidak dapat secara akurat menentukan jumlah sel mikroorganisme.

5.5.3 Direct Microscopic Count

Metode plate count merupakan suatu cara pembiakan bakteri menggunakan media padat di mana cara kerjanya menggunakan serangkaian pengenceran terhadap sampel dengan menggunakan kelipatan 10. Pengenceran merupakan suatu keadaan di mana sampel disiapkan untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Kemampuan mendistribusikan bakteri dalam sampel, dengan tujuan melepaskan sel bakteri untuk kelangsungan hidupnya bisa jadi disebabkan oleh keadaan yang tidak berguna.(Putra, 2021)

Bab 6

Metabolisme Bakteri

6.1 Pendahuluan

Bakteri merupakan sel prokariot yang membutuhkan nutrien-nutrien dasar dan faktor-faktor fisik tertentu untuk kelangsungan hidupnya seperti halnya organisme-organisme lain. Kebutuhan khusus bakteri tersebut sangat beragam yang dapat disediakan di laboratorium melalui bermacam media pertumbuhan. Metabolisme merupakan semua reaksi biokimia yang terjadi dalam sel atau organisme. Studi tentang metabolisme bakteri berfokus pada keragaman reaksi oksidasi, reduksi yang bertujuan untuk menghasilkan energi (Sears, 2011).

Metabolisme bakteri juga mempelajari tentang penyerapan dan pemanfaatan senyawa anorganik atau organik yang diperlukan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan agar keadaan stabil di tingkat seluler. Reaksi eksergonik (menghasilkan energi) dan reaksi endergonik (membutuhkan energi) ini dikatalisis di dalam sel bakteri hidup melalui sistem enzim terintegrasi, dan hasil akhirnya adalah replikasi sel sendiri. Kemampuan sel mikroba untuk hidup, berfungsi, dan bereplikasi dalam lingkungan kimia yang sesuai seperti media kultur bakteri dan pertumbuhan kimia yang dihasilkan selama transformasi ini merupakan ruang lingkup metabolisme bakteri (Geo.F.Brooks;Janet S. Butel;Stephan A.Morse, 2001).

Metabolisme mempunyai komponen penghasil energi yang disebut katabolisme dan komponen biosintetik yang menggunakan energi yang disebut anabolisme. Reaksi dalam rangkaian katabolik menghasilkan energi dalam bentuk ATP, yang dapat digunakan dalam reaksi anabolik untuk membangun bahan sel dari nutrisi-nutrisi di lingkungan. (Kate Rittenhouse-Olson;Ernesto De Nurdin, 2017).

Proses metabolisme meliputi proses reaksi pembentukan dan reaksi pemecahan. Reaksi kimiawi yang membebaskan energi melalui perombakan nutrien disebut reaksi katabolisme, reaksi disimilasi, atau reaksi peruraian. Reaksi kimiawi yang menggunakan energi untuk mensintesis komponen-komponen sel dan melakukan fungsi-fungsi sel yang lain disebut reaksi anabolisme atau reaksi asimilasi. (Geo F Brooks; Janet S. Butel; Stephen A. Morse, 2008;(Dinata, 2011).

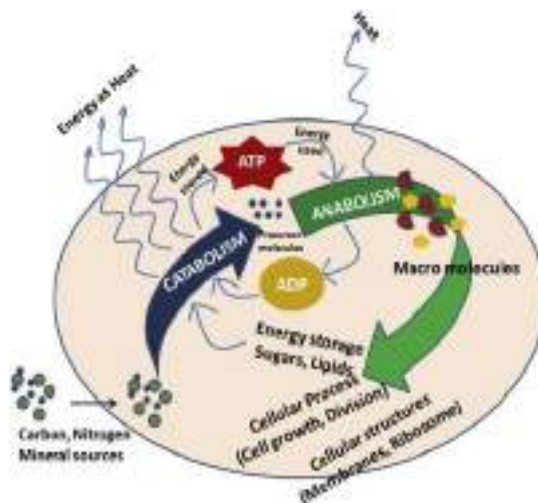
Jumlah energi yang dilepaskan atau digunakan selama reaksi kimia ditentukan sebagai peningkatan panas dan diekspresikan dalam perubahan energi. Mikroorganisme seperti bakteri heterotrofik nonfotosintetik memperoleh energi dari oksidasi senyawa anorganik, sedangkan kelompok fotosintetik memperoleh energi dari cahaya matahari. Semua reaksi metabolisme dikatalis oleh enzim, baik reaksi sederhana, seperti penguraian asam karbonat menjadi air dan CO₂ serta proses pemasukan dan pengeluaran zat kimia dari dan ke dalam sel melalui membran, maupun reaksi panjang dan rumit, seperti proses biosintesis protein. (Dinata, 2011).

6.2 Jalur Metabolisme

Pertumbuhan mikroba memerlukan polimerisasi unit pembangun biokimiawi menjadi protein, asam nukleat, polisakarida, dan lipid. Unit pembangun harus sudah ada dalam media pertumbuhan atau harus disintesis oleh sel-sel yang sedang tumbuh. Kebutuhan biosintetik sel-sel yang sedang tumbuh. Kebutuhan biosintetik lainnya mencakup kebutuhan akan koenzim yang berperan dalam katalisis enzimatik. Pertumbuhan memerlukan sumber energi metabolik untuk sintesis ikatan anhidrida dan untuk mempertahankan gradien transmembran berbagai inom dan metabolit (Geo F Brooks; Janet S. Butel; Stephen A. Morse, 2008).

Reaksi kimia baik biosintetik dan degradatif merupakan serangkaian reaksi yang saling berkaitan satu sama lain dan secara umum dikenal sebagai proses metabolisme jasad hidup. Metabolisme pada dasarnya merupakan aktivitas yang dilakukan oleh sel untuk menghasilkan energi (ATP), senyawa pereduksi (NADPH), dan molekul prekursor. Energi (ATP) digunakan untuk mendorong reaksi-reaksi biokimia sehingga dapat berlangsung, misalnya dalam kontraksi otot, transpor nutrien, perombakan senyawa karbohidrat, dan lain-lain.

Sel melakukan kegiatan seluler dengan transformasi yang kita kenal dengan metabolisme, dengan tujuan untuk dapat hidup, tumbuh, dan bereproduksi. Proses metabolisme memiliki beberapa ciri yang khas, yaitu alur metabolisme merupakan proses yang tidak berbalik; setiap alur metabolisme berkesinambungan; setiap alur metabolisme merupakan alur yang menggunakan atau menghasilkan energi (Yuwono, 2005).



Gambar 6.1: Metabolisme Bakteri (Bacterial Metabolism–Coupled Energetics - ScienceDirect)

Proses metabolisme meliputi proses biosintesis dan proses penguraian atau pemecahan. Reaksi ini melibatkan energi yang kita kenal sebagai ATP. Proses ini bertujuan diantaranya untuk proses pertumbuhan dan pembelahan sel yang melibatkan organel sel seperti membran dan ribosom.

6.2.1 Katabolisme

Proses katabolisme menghasilkan energi dalam bentuk ATP. Mikroorganisme terutama bakteri, menghasilkan energi melalui pemindahan elektron, yaitu dibagi dalam tiga kategori:

1. Produksi energi secara anaerob
2. Produksi energi secara aerob
3. Produksi energi secara fotosintetik.

Berdasarkan sumber energi yang digunakan, bakteri dapat dibagi menjadi dua kelas, yaitu heterotrof dan autotrof. Bakteri heterotrof adalah kelompok bakteri yang menggunakan molekul organik sebagai sumber energi dan disebut juga sebagai kemoorganotrof. Bakteri autotrof adalah kelompok bakteri yang menggunakan komponen anorganik sebagai sumber energi (Geo F Brooks; Janet S. Butel; Stephen A. Morse, 2008)

Tabel 6.1: Pengelompokan Bakteri Menurut Produk Katabolisme Glukosa (Dinata, 2011)

Kelompok	Contoh	Produk
Bakteri Asam Laktat	<i>Streptococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Leuconostoc</i>	Hanya asam laktat atau asam laktat Bersama asam asetat, asam format, dan etil alcohol. Spesies yang menghasilkan asam laktat saja disebut spesies <i>homofermentative</i> , sedangkan spesies yang menghasilkan asam laktat dan senyawa-senyawa lain disebut spesies <i>heterofermentative</i> .
Bakteri Asam Propionat	<i>Propionobacterium</i> <i>Veillonella</i>	Asam propionate, asam asetat, dan CO ₂
Bakteri coli-aerogenes-tifoid	<i>Eschercheria</i> <i>Enterobacter</i> <i>Bacillus</i>	Asam format, asam asetat, asam laktat, asam suksinat, etil alcohol, CO ₂ hydrogen, dan 2,3-butilen alcohol (dihasilkan dalam berbagai kombinasi; jumlah bergantung pada genus dan spesies).

Bakteri aseton, butil alkohol	<i>Clostridium</i> <i>Eubacterium</i> <i>Bacillus</i>	Asam butirat, butil alcohol, aseton, isopropyl alcohol, asam asetat, asam format, etil alcohol, hydrogen, dan CO ₂ (dihasilkan dalam berbagai kombinasi jumlah bergantung pada spesies).
Bakteri asam asetat	<i>Acetobacter</i>	Asam asetat, asam glukonat, asam kojat

6.2.2 Anabolisme

Anabolisme merupakan sintesis senyawa kompleks dari molekul sederhana menjadi senyawa kompleks dan membutuhkan energi. Energi ATP yang dihasilkan dalam proses katabolisme digunakan melalui berbagai macam cara, seperti biosintesis struktur sel, sintesis enzim dan zat-zat kimia lainnya, perbaikan kerusakan sel serta pemeliharaan keutuhan sel secara fisik dan kimiawi. ATP juga digunakan untuk proses pergerakan, pengangkutan solut melewati membran, dan produksi panas. ATP sebagian besar dipergunakan untuk proses-prose metabolik yang tidak berkaitan dengan biosintesis bahan sel (Geo F Brooks; Janet S. Butel; Stephen A. Morse, 2008).

6.3 Produksi Energi

Energi dalam bentuk ATP berasal terutama dari ADP. Produksi ATP dapat terjadi jika sel melakukan metabolisme senyawa yang mempunyai energi potensial yang terikat di dalam senyawa tersebut. Senyawa berenergi potensial seperti karbohidrat, asam lemak dan asam amino. Jika karbohidrat, misalnya glukosa, didegradasi melalui serangkaian reaksi metabolik yang lain. Dalam reaksi glikolisis, glukosa akan diubah menjadi asam piruvat yang diikuti dengan produksi ATP. Pada bakteri aerob glikolisis akan dilanjutkan dengan siklus asam sitrat (siklus Krebs) dan proses fosforilasi oksidatif. Dalam keadaan aerob, piruvat akan masuk ke dalam mitokondria dan dioksidasi secara lengkap menjadi CO₂ dan H₂O. Sedangkan pada beberapa bakteri anaerob atau bakteri fakultatif anaerob, piruvat akan diubah menjadi laktat.,

sedangkan pada khamir piruvat diubah menjadi etanol dalam keadaan anaerob (Yuwono, 2005).

Produksi energi oleh bakteri dapat dibagi dalam tiga yaitu:

1. Produksi energi melalui proses anaerob

a. Glikolisis

Bakteri heterotrof dapat menggunakan berbagai senyawa organik sebagai sumber energi. Senyawa-senyawa tersebut mencakup karbohidrat, asam organik, asam lemak, dan asam-asam amino. Glikolisis adalah proses perombakan glukosa yang tidak mengharuskan adanya oksigen sehingga dapat dilakukan baik oleh sel-sel aerob maupun sel-sel anaerob.

b. Jalur Pentosa fosfat

Jalur peruraian karbohidrat ini menyangkut pembentukan gula fosfat berkarbon enam (heksosa ,onofosfat) dan gula fosfat berkarbon lima (pentosa fosfat). Karena menyangkut beberapa reaksi glikolitik, jalur ini dipandang sebagai glikolisis lansir.

c. Fermentasi

Reaksi fermentasi menggunakan bahan organik sebagai donor dan akseptor elektron. Bakteri anaerob fakultatif dan bakteri anaerob obligat menggunakan berbagai macam fermentasi untuk menghasilkan energi. Contohnya fermentasi asam laktat oleh *streptococcus lactis* menguraikan glukosa menjadi laktat sehingga mengasamkan susu.

2. Produksi energi melalui proses aerob

a. Rantai transpor elektron

Sistem ini dikenal juga dengan sistem sitokrom atau rantai respirasi, yaitu serangkaian reaksi oksidasi-reduksi untuk pembentukan ATP. Fungsi rangkaian ini adalah menerima elektron dari senyawa-senyawa tereduksi dan memindahkan oksigen sehingga terbentuk air

b. Siklus asam trikarboksilat

Siklus asam trikarboksilat (TCA, tricarboxylic acid) merupakan serangkaian reaksi yang membangkitkan energi dalam bentuk

ATP dan molekul-molekul koenzim tereduksi NADH₂ dan FADH₂. Banyak zat antara dalam siklus ini merupakan prekursor dalam biosintesis asam amino.

c. Katabolisme protein

Banyak bakteri heterotrof dapat menghancurkan protein di luar tubuhnya dan menggunakan produk-produk hasil proses tersebut sebagai sumber tenaga karbon dan nitrogen. Bakteri menghasilkan peptidase yang menguraikan peptida menjadi asam-asam amino yang kemudian dikatabolisme melalui cara yang bergantung pada jenis asam amino dan spesies atau galur bakteri yang menguraikan tersebut.

d. Katabolisme lipid

Perombakan lipid dan lemak diawali dengan pecahnya trigliserida oleh penambahan air sehingga terbentuk gliserol dan asam lemak dengan bantuan enzim lipase.

3. Produksi energi melalui fotosintesis

Cahaya merupakan sumber energi dan CO₂ sebagai sumber karbon pada reaksi ini. Reaksi ini bisa dilihat pada reaksi fosforilasi siklik dan nonsiklik (Dinata, 2011).

Bakteri fotosintesis mempunyai klorofil, yang disebut bakterioklorofil. Struktur dan sifat penyerapan cahaya bakterioklorofil berbeda dari klorofil pada tumbuhan. Bakterioklorofil menyerap cahaya pada daerah dekat inframerah (660-870 nm). Klorofil ini tidak terdapat di dalam kloroplas, tetapi ditemukan pada berbagai sistem membran di seluruh sel bakteri (Dinata, 2011).

6.4 Regulasi Metabolisme

Pengaturan proses-proses metabolik dapat berlangsung melalui dua cara:

1. Penambahan atau pengurangan kadar enzim-enzim tertentu di sepanjang jalur metabolisme.

2. Peningkatan atau penurunan aktivitas katalitik berbagai enzim fundamental. Enzim yang aktivitas katalitiknya dikendalikan disebut enzim regulator; metabolit yang memulai mekanisme pengendalian tersebut dinamakan metabolit regulator.

Mekanisme cara pertama dijelaskan bahwa struktur tertentu yang disebut sebagai operator mengatur kerja berbagai gen struktural dari kromosom, yang mengatur kerja beberapa enzim yang berperan dalam jalur metabolit tertentu. Misalnya jalan dari pra zat A ke senyawa D; operator yang sangat erat terikat pada gennya, terikat dengan molekul protein khusus yang disebut represor (R). Sintesis represor tersebut diatur oleh gen tertentu (gen R), yang berlokasi pada kedudukan yang cukup jauh dari kromosom, serta oleh kompleks antara R dan metabolit regulator. Metabolit ini dapat merupakan salah satu intermediet dari A ke D itu sendiri. Interaksi operator dengan kompleks RD berlainan dari operator dengan R itu sendiri dan mungkin dapat menghambat sintesis enzim regulator (1,2 dst). Ini merupakan pengaturan metabolisme dengan penekanan. Fenomena sebaliknya, induksi adalah peningkatan sintesis enzim regulator bila kadar suatu metabolit meningkat. Hal ini disebabkan oleh aktivitas operator berlainan, yaitu kerjanya dihambat oleh R dan tidak dihambat oleh RA (Sears, 2011).

Mekanisme kedua proses pengaturan enzim berlangsung melalui interaksi langsung metabolit regulator pada enzim regulator. Interaksi-interaksi ini mungkin terjadi dengan proses yang tidak diterangkan sebelumnya (aktivasi dan inhibisi) atau dengan proses lain, yang disebut alosterik. Interaksi antara efektor alosterik dan protein alosterik masih dalam penelitian (Yuwono, 2005)

6.4.1 Regulasi Aktivitas Enzim

Penelitian dalam beberapa dekade yang lalu telah menunjukkan bahwa aktivitas enzim dapat dikontrol dengan beragam mekanisme. Regulasi aktivitas enzim dapat dilakukan dengan mengubah konsentrasi substrat atau reaktan. Bila konsentrasi substrat bertambah, maka laju reaksi meningkat hingga mencapai nilai batas.. Pengendalian langsung aktivitas enzim melalui pengendalian dengan proses-proses lain biasanya berarti pengaturan dengan menggunakan ligan atau molekul yang dapat berikatan dengan enzim. Ligan-ligan seperti ini secara struktural tidak berkaitan dengan substrat enzim pengatur yang bersangkutan.

Regulasi aktivitas enzim dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

1. Inhibisi Umpan Balik
2. Perubahan Energi
3. Pemecahan Enzim
4. Modifikasi Enzim
5. Regulasi Sintesis Enzim
6. Produksi Berlebih Metabolit Primer
7. Produksi Berlebih Metabolit Sekunder (Dinata, 2011).



Gambar 6.2: Regulasi Aktivitas Enzim

Enzim bekerja secara serentak dan terkoordinasi sehingga semua kegiatan kimiawi dalam sel menjadi saling terpadu. Salah satu akibatnya yang jelas adalah sel hidup membutuhkan dan menguraikan bahan-bahan yang dibutuhkan bagi metabolisme dan pertumbuhan normal. Hal ini mengisyaratkan adanya mekanisme pengendalian metabolisme selular yang tepat yang pada akhirnya menyangkut pengendalian kegiatan enzim. Aktivitas enzim dapat diatur melalui 2 cara, yaitu pengendalian katalis secara langsung dan pengendalian genetic (Abul K. Abbas, MBBS; Andrew H. Lichtman, MD, 2009).

Pengendalian langsung mekanisme katalitik itu terjadi dengan mengubah konsentrasi substrat atau reaktan. Artinya, jika konsentrasi substrat bertambah, maka laju reaksi meningkat sampai tercapai suatu nilai pembatas dan jika produk menumpuk maka laju reaksi menurun. Pengendalian langsung melalui pengendalian dengan proses-proses lain, maksudnya adalah pengaturan oleh ligan (molekul yang dapat terikat pada enzim) yang tidak ikut berperan dalam proses katalitik itu sendiri.

Ada berbagai macam pengendalian seperti itu, diantaranya:

1. Hambatan arus balik, ligan pengaturnya adalah produk akhir suatu lintasan metabolik yang dapat menghentikan sintesisnya sendiri dengan cara menghambat aktivitas salah satu enzim pada awal lintasan biosintetiknya.
2. Aktivasi prekursor, ligan pengaturnya merupakan prekursor pertama suatu lintasan.
3. Pengendalian yang berkaitan dengan energi, ligan pengaturnya adalah reaksi-reaksi yang berkaitan dengan energi .
4. Sifat-sifat pengikatan enzim pengatur, tidak semua enzim merupakan enzim pengatur yang aktivitasnya dapat dikendalikan secara langsung. Enzim tersebut dapat dipengaruhi oleh metabolit pengatur. Enzim pengatur disebut enzim alosterik. Enzim yang berperan pada waktu sel beradaptasi pada lingkungan yang berubah dalam induksi dan represi enzim (Yuwono, 2005).

Pengendalian genetik memiliki dua proses, yaitu induksi dan represi enzim. Untuk terjadinya sintesis enzim dibutuhkan suatu inducer, yaitu substansi berberat molekul rendah dan bisa berupa substrat atau senyawa dari reaksi yang dikatalis oleh enzim yang bersangkutan, prosesnya disebut induksi. Bila substansi berberat molekul rendah baik produk maupun senyawa yang sekerabat bagi reaksi yang bersangkutan, berlaku sebagai korepressor dengan cara mencegah sintesis enzim tersebut, disebut represi (Cappuccino, 2013).

Bab 7

Nutrisi dan Kultivasi Bakteri

7.1 Pendahuluan

Bakteri adalah mikroorganisme yang dapat hidup di mana saja selagi kebutuhan makanannya dapat terpenuhi. Itulah sebabnya bakteri dapat hidup di luar tubuh makhluk hidup maupun di dalam tubuh makhluk hidup. Bila kebutuhan hidupnya terpenuhi, maka bakteri dapat dengan cepat berkembang biak, baik secara generatif maupun vegetatif.

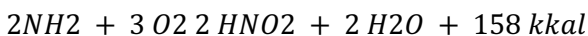
Untuk kepentingan dunia medis, dan kepentingan bisnis lainnya, maka para ilmuwan sekarang mencoba untuk mengembangkan berbagai jenis bakteri, baik untuk kepentingan identifikasi penyakit, pembuatan obat-obatan, pengolahan makanan, pengolahan limbah, dan lain sebagainya. Kultivasi bakteri menjadi suatu industri yang besar yang mendatangkan banyak keuntungan bagi beberapa perusahaan. Untuk itu perlu disiapkan satu teknik khusus untuk mengembangbiakkan bakteri. Pada uraian berikut akan dibahas beberapa teknik kultivasi bakteri yang sudah biasa dilakukan oleh manusia. Dan pembahasan tentang kultivasi sangat berhubungan dengan jenis makanan dan kondisi lingkungan yang dibutuhkan bakteri. Untuk itu pada bagian ini akan dibahas terlebih dahulu tentang kebutuhan zat makanan bakteri.

7.2 Kebutuhan Nutrisi dan Oksigen Bakteri

Bakteri dapat dikelompokkan menjadi beberapa kelompok berdasarkan kebutuhan nutrisinya. Secara garis besar ada dua golongan bakteri, yakni bakteri autotrof dan bakteri heterotrof. Bakteri autotrof adalah bakteri yang dapat membuat makanannya sendiri dengan bantuan energi. Bila energinya berasal dari sinar matahari disebut fotoautotrof, dan bila berasal dari reaksi kimia disebut kemoautotrof.

Bakteri fotoautotrof dapat melakukan fotosintesis karena memiliki klorofil, pigmen ungu, kuning atau merah. Contoh bakteri fotoautotrof adalah bakteri *Chlorobium*, *Thiospirillum*, *Rhodospseudomonas* dan yang lainnya. Dan jenis bakteri ini menggunakan sumber karbon dari gas karbon dioksida dari udara untuk membuat makanan. Karena bisa berfotosintesis maka bakteri ini membutuhkan oksigen, sehingga digolongkan juga ke kelompok bakteri aerob (Scognamiglio, Giardi and Zappi, 2021).

Bakteri kemoautotrof adalah bakteri yang dapat membuat makanannya sendiri dengan bantuan energi dari reaksi kimia. Beberapa contoh bakteri ini adalah bakteri nitrit dan bakteri nitrat, dan yang lainnya. Beberapa contoh bakteri kemoautotrof dengan reaksi kimianya adalah sebagai berikut:



Reaksi di atas adalah reaksi yang dilakukan oleh *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* yang mengoksidasi amonia menjadi nitrit dan menghasilkan energi sebesar 158 kkal. Energi ini akan digunakan oleh kedua bakteri untuk membuat makanannya.



Sedangkan reaksi di atas dilakukan oleh bakteri *Nitrobacter* yang mengoksidasi nitrit menjadi nitrat. Dan energi ini juga digunakan oleh bakteri *Nitrobacter* untuk membentuk energi (Djojuroto, 2021).

Bakteri heterotrof adalah bakteri yang tidak dapat membuat makanannya sendiri, dan hidup dari zat organik yang sudah jadi. Bakteri heterotrof ini ada yang bersifat saprofit dan ada yang bersifat parasit. Bersifat saprofit artinya bila bakteri tersebut hidup dari zat-zat organik yang sudah mati. Misalnya bila ada bangkai atau sampah, maka bakteri saprofit akan memakannya. Salah satu

contoh bakteri saprofit ialah bakteri *Escherichia coli* yang hidup di usus tebal manusia dan berfungsi untuk membusukkan sisa-sisa pencernaan (Raphael and Riley, 2017).

Sedangkan bakteri yang bersifat parasit adalah bakteri yang memakan zat organik pada makhluk yang masih hidup. Bakteri ini pada umumnya merugikan, karena dapat merusak jaringan tubuh baik tubuh hewan, manusia, maupun tumbuhan. Kebanyakan bakteri jenis ini menimbulkan penyakit (Muna and Khariri, 2020). Misalnya bakteri *Clostridium tetani* yang dapat menimbulkan penyakit tetanus pada manusia.

Penggolongan bakteri juga dapat dilakukan berdasarkan kebutuhan oksigennya. Bakteri aerob adalah bakteri yang membutuhkan oksigen bebas untuk hidupnya. Oksigen yang dibutuhkan ini berguna untuk mengoksidasi senyawa kimia untuk menghasilkan energi. Salah satu contoh bakteri aerob adalah bakteri *Nitrosococcus* yang mengoksidasi amonia menjadi nitrit. Ada dua golongan bakteri aerob, yakni aerob fakultatif dan aerob obligat. Aerob obligat artinya memang betul-betul membutuhkan oksigen dan tanpa kehadiran oksigen bakteri ini akan mati. Bakteri *Nitrobacter* adalah bakteri yang aerob obligat. Sedangkan aerob fakultatif adalah bakteri yang dapat hidup bila ada oksigen maupun tanpa oksigen (Kurnia, Permatasari and Rafika, 2015).

Bakteri anaerob adalah bakteri yang tidak membutuhkan oksigen dalam hidupnya. Seperti bakteri aerob, bakteri anaerobpun ada yang bersifat fakultatif, dan ada yang bersifat obligat (Cyprowski et al., 2018). Bersifat fakultatif bila bakteri ini dapat hidup baik dalam kondisi ada oksigen maupun tidak ada oksigen. Banyak bakteri flora normal tubuh bersifat anaerob fakultatif (Liasari and Wahyudi, 2014). Salah satu contoh yang terkenal adalah bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan bakteri anaerob obligat adalah bakteri anaerob yang akan mati bila ada oksigen. Contoh bakteri anaerob obligat ialah *Clostridium tetani* penyebab penyakit tetanus.

7.3 Media Kultivasi Bakteri Berdasarkan Susunan dan Kepadatannya

Media kultivasi atau media kultur untuk pertumbuhan bakteri merupakan media yang telah diberi nutrient tertentu dan diperkaya dengan bahan tertentu agar bakteri dapat tumbuh di laboratorium. Bakteri yang telah tumbuh di media akan diisolasi, diperbanyak jumlahnya, diadakan pengujian karakteristik fisiologi dan penghitungan jumlah berdasarkan koloninya. Pembuatan media biasanya disesuaikan dengan sifat dan kebutuhan lingkungan bakteri. Misalnya kandungan air untuk menjaga kelembaban dan untuk pertukaran zat metabolisme, memiliki sumber karbon, memenuhi kebutuhan mineral dan vitamin dan gas, pengaturan tekanan sel dengan lingkungannya, penghitungan derajat keasaman, dan pengaturan temperatur dan kondisi steril media.

Ada tiga macam bentuk media pertumbuhan bakteri berdasarkan komposisi atau susunan bahan media dan bentuk media. Ketiga macam media itu ialah media alami, semi sintetis, dan sintesis. Media sintesis adalah media yang tersusun atas komponen-komponen kimia tertentu yang sudah ditentukan baik jenis dan takarannya secara pasti. Sedangkan media alami (non sintetis) adalah media yang tersusun atas bahan-bahan alami seperti dari ekstrak singkong, ekstrak kentang, sayuran, dan sering juga dari kacang merah. Pada media ini masing-masing komposisi kimia bahan media tidak diketahui secara pasti. Dan media semi sintesis merupakan media yang tersusun dari bahan-bahan sintetis dan bahan alami. Misalnya media kaldu nutrisi yang tersusun atas bahan kimia pepton, ekstrak daging, dan garam dapur.

Berdasarkan kepadatan media, ada tiga macam media. Misalnya media padat, media cair, media semi padat. Kepadatan media biasanya dilakukan dengan menambahkan bahan agar-agar atau gelatin. Misalnya pada media padat selalu ditambahkan agar-agar sebanyak 15%. Contoh media padat yang sering dipergunakan ialah Sabouraud Dextrose Agar (SDA); Potato Dextrose Agar (PDA); Plate Count Agar (PCA), dan lain-lain. Sedangkan media semi padat adalah media yang kadar agar-agarnya sekitar 7%, sehingga media ini bersifat kenyal dan tidak padat ataupun cair. Sedangkan media cair adalah media yang tidak mengandung agar-agar (Yusni, 2017). Bahan dasar dari media cair adalah Nutrient broth (kaldu).

Ada beberapa bentuk media cair yang terbuat dari nutrient broth, yakni *pepton dilution fluid*, *lactose broth*, *Mac Conkey broth*, *Tryptic soy broth*, *potato*

dextrose broth, dan lain sebagainya (Frantz et al., 2022). Media cair biasanya dipergunakan untuk pembenihan sebelum dipindahkan ke media padat. Sedangkan media semi padat digunakan untuk pertumbuhan bakteri yang memerlukan kadar air banyak dan bersifat anaerob. Media semi padat juga berguna untuk mempelajari gerakan bakteri tertentu. Media padat digunakan untuk menumbuhkan kultur murni koloni bakteri tertentu.

7.4 Tipe-tipe Media Berdasarkan Fungsinya

Kebanyakan bakteri heterotrof dapat tumbuh baik pada media nutrient broth dan nutrient agar. Tetapi ada juga bakteri yang tidak begitu baik tumbuh di kedua media itu, atau mungkin tidak akan tumbuh sama sekali. Mungkin bakteri-bakteri yang seperti itu masih memerlukan beberapa bahan tambahan agar dapat tumbuh baik. Mungkin saja bakteri ini memerlukan bahan tambahan seperti vitamin atau zat-zat penumbuh lainnya. Untuk itu para ahli bakteri telah merumuskan beberapa media berdasarkan fungsi dan manfaat media tersebut. Adapun media-media tersebut adalah media yang diperkaya (*enriched media*), media selektif (*selective media*), media diferensial (*differential media*), media assay (*assay media*), media pencacahan (*enumeration media*), media karakterisasi (*media for characterization*), dan media perbaikan (*maintenance media*).

Media yang diperkaya adalah media yang mendapatkan penambahan bahan-bahan khusus seperti ekstrak tumbuhan atau hewan untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan yang rakus. Sedangkan media selektif adalah media yang ditambah bahan tertentu untuk menghambat pertumbuhan bakteri tertentu. Misalnya penambahan *crystal violet* ke media agar akan menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif, namun tidak menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (Chaichalerm et al., 2012).

Media diferensial adalah media yang ditambahkan reagen tertentu di mana bakteri yang memanfaatkan reagen tersebut akan membentuk zona lingkaran bersih di sekitarnya (Lee and Lee, 2008). Misalnya media yang diberi sel darah merah ke medium agarnya. Maka bakteri hemolisis akan mengeluarkan enzim untuk menghancurkan seluruh sel darah merah di sekitarnya dengan

membentuk zona bersih di sekitarnya. Dengan demikian para pengguna media mengetahui koloni bakteri mana yang merupakan bakteri hemolisis.

Media assay adalah media yang bahan-bahannya telah diketahui dan digunakan untuk menguji kemampuan vitamin, asam amino, dan antibiotik tertentu dalam membunuh bakteri. Bahkan ada juga media assay yang dibuat khusus untuk menguji kemampuan bakteri untuk menghancurkan desinfektan tertentu (Costello, Lee and Henschke, 2001). Sedangkan media pencacahan adalah media yang digunakan untuk mengisolasi bakteri tertentu dan menghitung jumlahnya. Media karakterisasi adalah media yang digunakan untuk mengetahui tipe-tipe pertumbuhan suatu koloni bakteri. Dan media perbaikan adalah media yang disiapkan untuk memperbaiki kondisi pertumbuhan koloni bakteri.

7.5 Media Kultivasi Bakteri Berdasarkan Bahan Penyusun dan Manfaatnya

7.5.1 Media Nutrien Agar

Media nutrient agar (NA) adalah media padat yang mengandung bahan alami dan senyawa kimia tertentu, seperti nitrogen, air, limbah, kotoran, dan bahan lainnya. Biasanya media nutrient agar terbuat dari ekstrak daging sapi sebanyak 3 gram, pepton sebanyak 5 gram dan 15 gram agar. Ekstrak daging dan pepton adalah sumber nitrogen organik, sedangkan agar digunakan sebagai bahan pembuatnya. Bahan pematid agar digunakan karena bahan ini sukar dihancurkan oleh bakteri. Tidak semua bakteri dapat dikultivasi pada media nutrien agar. Beberapa contoh bakteri yang bisa dikultivasi di nutrien agar adalah bakteri antraks dan stafilokokus (Rizki, 2017).

7.5.2 Media Eosin Methylene Blue Agar (EMB)

EMB adalah media selektif diferensial. Media ini selektif karena berguna untuk menumbuhkan bakteri gram negatif seperti bakteri fecal coliform dan non fecal coliform. Jadi media ini berguna untuk menumbuhkan bakteri coliform. Sebab keberadaan bakteri ini sebagai suatu penanda apakah air tersebut sudah terkontaminasi feses atau belum. Komposisi media ini adalah

10 gram pepton, 5 gram laktosa, 5 gram sukrosa, dipotasium pospat 2 gram, 0,4 gram eosin Y, 0,065 gram methylene blue, air distilasi sebanyak 1 liter. Dan pH media dijaga agar berada di kisaran 7 – 7,4 (Lal and Cheeptham, 2007).

Pepton pada media ini berguna sebagai sumber nitrogen, vitamin, mineral, dan asam amino esensial. Laktosa berguna sebagai sumber karbohidrat untuk fermentasi bakteri, sekaligus untuk membedakan bakteri yang dapat memfermentasi laktosa dengan yang tidak dapat memfermentasi laktosa. Sukrosa berguna untuk sumber karbohidrat yang dapat difermentasi oleh bakteri coliform. Dipotassium pospat (K_2HPO_4) berguna untuk menyediakan elektrolit dan mengatur keseimbangan osmotik. Eosin Y dan methylene blue berguna untuk penunjuk indikator pH dan juga berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Dan agar berguna untuk memadatkan media.

7.5.3 Media Blood Agar

Media blood agar (Blood Agar Plate BAP) adalah media pertumbuhan bakteri yang digunakan untuk mengetahui keberadaan bakteri pathogen yang dapat menghasilkan eksotoksin hemolitik pada sel darah merah. Artinya keberadaan eksotoksin ini ditandai dengan hancurnya sel darah merah tersebut. Media ini adalah media semi selektif yang artinya tidak sepenuhnya dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Media ini sudah diperkaya dengan darah kambing atau domba (Gil-Setas et al., 2003).

Bahan penyusun BAP adalah 15 gram trypton, 5 gram peptone kedelai, 5 gram natrium klorida, 10 gram lithium klorida, 3,8 gram magnesium supfat, dan 15 gram agar. Dan ke dalam campuran media ini dicampurkan darah kambing atau domba yang segar. Media ini umumnya digunakan untuk mengkultivasi bakteri *Streptococcus pyogenes* yang meradang di tenggorokan.

7.5.4 Media Thioglycollate Broth

Media ini berguna untuk mendiasnotik keberadaan bakteri anaerob, aerob, microaerofili, dan rewel. Media ini mengandung bahan nutrisi bakteri seperti kasein, ragi, ekstrak daging, vitamin untuk mempercepat pertumbuhan bakterinya. Juga membutuhkan suplemen nutrisi yang lain seperti resazurin (bahan indikator oksidasi reduksi), dekstroza, vitamin K, dan hemin. Medium menggunakan 0,075% agar (0,75 gram) untuk menjaga kekentalannya agar

oksigen dari atmosfer sekitar media tidak terbawa dan menyebar ke seluruh media (Kvich et al., 2016). Bila bakteri fakultatif anaerob yang tumbuh, maka media tanam akan menjadi kabur di seluruh media. Bakteri gram positif akan tumbuh berbentuk bola-bola bulat terpisah. Sedangkan bakteri aerob akan tumbuh di permukaan botol. Dan yang bakteri anaerob obligat akan tumbuh di bagian bawah botol. Media ini sering digunakan bila pemeriksaan medis seorang pasien diduga darahnya terinfeksi bakteri anaerob.

Kasein dalam media ini berguna untuk menyuplai karbon dan nitrogen. Dektrosa berguna untuk sumber energi. Ragi dan berguna untuk mempercepat pertumbuhan. Garam natrium klorida berguna untuk menjaga keseimbangan osmotik media. Dan natrium thioglycollate berfungsi sebagai agen pereduksi yang berguna untuk membuang molekul oksigen dari media yang akan menciptakan kondisi anaerob pada media. Resazurin adalah indikator oksidasi reduksi yang akan berubah warna menjadi merah muda bila kadar oksigen bertambah. Dan larutan itu akan menjadi tidak berwarna bila kadar oksigen menurun. Hemin berguna untuk menambah kebutuhan makanan dalam pertumbuhan bakteri tertentu.

7.5.5 Media Mac Conkey Agar

Media Mac Conkey Agar digunakan untuk mengisolasi bakteri basil gram negatif. Hal ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri ini mampu memfermentasi laktosa atau tidak. Khususnya media ini digunakan untuk mengisolasi bakteri dari genus *Pseudomonas* dari keluarga *Enterobacteriaceae*.

Media ini terbuat dari bahan pepton sebanyak 17 gram, proteose pepton (daging dan kasein sebanyak 3 gram, laktosa sebanyak 10 gram, garam empedu sebanyak 1,5 gram, natrium klorida sebanyak 5 gram, neutral red sebanyak 0,03 gram, crystal violet sebanyak 0,001 gram, agar sebanyak 13,5 gram, dan aquades sebanyak 1 liter. Media diatur sedemikian rupa agar pH berkisar tetap pada 6,9 – 7,3 dan suhu 250C.

Sama seperti media-media sebelumnya, pepton merupakan penyedia nitrogen, vitamin, mineral dan asam amino esensial. Laktosa sebagai penyedia karbon dan energi serta untuk mengetahui keberadaan bakteri yang bisa memfermentasi laktosa, garam empedu dan kristal violet untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, Natrium klorida sebagai penyedia elektrolit dan menjaga keseimbangan tekanan osmotik, dan neutral red sebagai

indikator pH. Warna merah menandakan pH di bawah 6,8. Agar juga dipergunakan untuk memadatkan media.

Keberadaan bakteri yang memfermentasi laktosa diketahui dengan adanya koloni dan warna merah pada media. Warna merah ini berasal dari hasil fermentasi laktosa oleh bakteri. Sedangkan warna transparan menandakan tidak adanya bakteri yang memfermentasi laktosa menjadi asam (Surjawidjaja et al., 2007).

7.5.6 Media Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Sama seperti media Mac Conkey, media TSLA juga digunakan untuk mengetahui keberadaan bakteri kelompok Enterobacteriaceae dan kelompok bakteri gram negatif lainnya. Media ini mengandung glukosa, laktosa, dan sukrosa dan ditambahi juga ferric citrate (zat besi). Selain gula, media ini juga membutuhkan pepton, natrium klorida, ragi, sodium thiosulphate, dan air distilasi.

Pepton dan ragi merupakan sumber nitrogen dan nutrisi, natrium klorida untuk mengatur keseimbangan osmosis, ketiga gula menjadi sumber karbohidrat, ferric citrate sebagai penerima elektron dalam pembentukan hidrogen sulfida dari bakteri, sodium thiosulphate sebagai sumber mineral, phenol red sebagai indikator perubahan pH. Derajat keasaman untuk media ini adalah 7,2 – 7,6.

Bakteri yang menggunakan media ini diuji dengan kemampuannya untuk memfermentasi gula untuk menghasilkan hidrogen sulfida. Sedangkan fenol merah dan zat besi berguna sebagai indikator pH. Fenol merah akan menunjukkan warna kuning pada pH asam, dan warna merah pekat pada pH basa. Pada medium ini juga akan terbentuk senyawa FeSO_4 berupa endapan hitam pada media (Faizah and Tridayanti, 2022).

7.5.7 Media Kligler's Iron Agar Test (KIA)

Media ini juga digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri Enterobacteriaceae dan bakteri gram negatif basil lainnya berdasarkan kemampuannya untuk memfermentasi gula dan menghasilkan gas sulfida. Gula yang digunakan pada media ini adalah gula laktosa, glukosa dekstroza, pepton, ragi, dan fenol. Bila bakteri mampu memfermentasi glukosa dekstroza, maka akan dihasilkan asam yang akan mengubah media dari warna merah menjadi kuning. Karena jumlah gula yang digunakan sedikit, maka perubahan medium ke warna kuning hanya terlihat di bagian permukaan saja, sedangkan

bagian bawah dan bagian media lainnya tetap berwarna merah (pH basa). Namun bila laktosa yang difermentasi oleh bakteri, maka seluruh medium akan berwarna kuning (Maarif Rukmana, 2019).

Kombinasi ferrous sulphate dan sodium thiosulphate berguna untuk menunjukkan produksi hidrogen sulfida oleh bakteri yang ditandai dengan terbentuknya warna hitam di koloni bakteri. Asam yang dihasilkan dari hasil fermentasi laktosa berguna untuk menjaga keasaman media pada kondisi aerob.

7.5.8 Media Simmons Citrate Agar (SCA)

Media ini digunakan untuk menguji uji biokimia bakteri. Tujuannya adalah untuk mempelajari sifat-sifat penting suatu bakteri. Prinsip kerja media ini adalah menggunakan sitrat sebagai sumber energi. Dan hasil reaksi ini akan menghasilkan enzim sitrat permease yang akan mengubah asam sitrat menjadi piruvat. Dan piruvat adalah senyawa yang dapat menghasilkan energi melalui proses glikolisis. Perubahan sitrat ini ditandai dengan dihasilkannya amonia yang ditandai dengan adanya warna biru (Khodjojo, 1996). Oleh karena itu pada media ini perlu ditambahkan bromthymol blue.

Bahan lain yang diperlukan pada media ini adalah agar, sodium klorida, sodium sitrat, amonium dihidrogen fosfat, dipotassium pospat, magnesium sulfat, dan bromthymol blue, dan agar. Dan untuk pembuatan media juga diperlukan aquades. Ammonium dihidrogen fosfat merupakan sumber nitrogen, dipotassium fosfat sebagai buffer media, sodium klorida untuk menjaga keseimbangan osmotik, magnesium sulfat untuk kofaktor enzim. Media ini digunakan khususnya untuk mengetahui keberadaan bakteri *Escherichia*, *Shigella*, sp., *Enterobacteriaceae*, *Salmonella*, *Klebsiella*, dan lain sebagainya.

7.5.9 Media Urease Test, Rapid Urease Test (RUT)

Media ini sering digunakan untuk mengetahui bakteri Enteric bacilli. Test digunakan berdasarkan kemampuan bakteri untuk memecah urea melalui produksi enzim urease. Urea itu sendiri adalah sisa pencernaan asam amino. Keberadaan bakteri ini ditandai dengan perubahan warna media dari phenol red ke warna orange muda (kadang juga warna merah muda) (MOKHTAR et al., 2019).

RUT digunakan untuk mendiagnosa keberadaan bakteri *Helicobacter pylori* dengan menggunakan mukosa gastrik lambung yang diambil dengan endoskopi gastrik di lambung. Urease yang dihasilkan oleh *H.pylori* akan menghidrolisis urea menjadi amonia yang menaikkan pH medium, dan mengubah warna spesimen dari kuning menjadi merah.

7.5.10 Media Lysine Iron (LIA)

LIA adalah kombinasi medium yang digunakan untuk mengetahui keberadaan bakteri enterik gram negatif basil. Dasar penyelidikannya ialah reaksi dekarboksilasi dan deaminasi lisin yang akan membentuk gas hidrogen sulfida (Syarifah, 2015). Biasanya LIA penggunaannya digabung dengan TSI, khususnya untuk mengetahui keberadaan bakteri *Salmonella* dan *Shigella*.

Media ini terbuat dari enzim pencernaan gelatin, pepton, ragi, dekstros, lisin, Ferri amonium nitrat, sodium tiosulfat, bromocresol ungu, dan agar. Derajat keasaman media dipertahankan 6,8. Pepton adalah sumber nitrogen, lisin sebagai agen deaminasi. Sodium tiosulfat sebagai pereduksi sulfur, dan ferri ammonium sitrat sebagai indikator reduksi sulfur. Bromocresol ungu berguna sebagai indikator pH. Warna kuning menyatakan pH di bawah 5,2 dan warna ungu menyatakan pH media di atas 6,8.

7.5.11 Media Methyl Red Vogues Proskaner

Pada mulanya Media Methyl Red Vogues Proskaner bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri dari kelompok *Enterobacteriaceae*. Namun sekarang bisa juga untuk mempelajari sifat dan ciri bakteri dari kelompok lain, termasuk *Actinobacteria*. Dan biasanya media ini sering dikombinasikan dengan pengujian indol dan sitrat (Susi et al., 2017).

Fermentasi terhadap glukosa yang dilakukan oleh jenis bakteri ini akan mengubah indikator methylen red menjadi kuning (pH = 6). Bahan lain yang digunakan pada media ini adalah pepton, dipotassium pospat.

7.5.12 Media Indole Test

Media ini berguna untuk membedakan antara bakteri *Escherichia coli* dengan *Enterobacter aerogenes*. Dasar dari kerja uji indol ini adalah kemampuan organisme untuk menghancurkan triptofan menjadi indol. Media ini menggunakan kaldu tripton, pepton, ekstrak daging, sodium klorida, tryptone,

isoamyl alcohol, air steril, dan beberapa zat lainnya. Pada saat pengujian, bakteri yang sudah tumbuh, bila ditetesi reagen Kovacs ke dalam tabung, bila terbentuk warna merah muda ke merah di bagian atas medium berarti hasil uji adalah positif, dan bila reagen tetap berwarna kuning, berarti hasil uji adalah negatif (Rifai, 2021).

7.6 Kondisi Fisik Kultivasi Bakteri

Selain kebutuhan zat-zat kimia untuk pertumbuhannya, bakteri juga membutuhkan kondisi-kondisi fisik tertentu dalam pertumbuhannya. Kondisi-kondisi fisik tersebut adalah suhu, gas, pH, dan kebutuhan fisik tambahan lainnya.

Temperatur berpengaruh terhadap kecepatan tumbuh, proses metabolisme, morfologi sel, dan jumlah bakteri yang tumbuh pada suatu media. Bakteri psychrophiles adalah bakteri yang dapat tumbuh pada suhu 00 C atau lebih rendah lagi, meskipun suhu terbaiknya antara 150 hingga 200C. Suhu optimal bakteri ini ialah 20 dan 300C. Kemudian ada lagi bacteria mesophiles, yang tumbuh baik pada suhu 25 hingga 400C. Dan bakteri thermophiles adalah bakteri yang dapat hidup pada suhu 45 hingga 600C (Tri Nanda, Anggraini Siregar and Kurniawan, 2017).

Kondisi fisik berupa gas telah dibahas pada bagian sebelumnya, yakni bakteri aerob yang membutuhkan oksigen, dan bakteri anaerob yang tidak membutuhkan oksigen. Fakultatif aerob artinya bakteri itu dapat hidup dalam kondisi ada oksigen maupun tidak ada oksigen. Aerob obligat artinya bakteri yang betul-betul harus ada oksigen untuk dapat hidup. Fakultatif anaerob artinya bakteri yang masih bisa hidup bila ada kadar oksigen sedikit, dan anaerob obligat adalah bakteri yang akan mati bila ada oksigen.

Derajat keasaman (pH) pertumbuhan bakteri juga berada pada rentang 6,5 hingga 7,5. Biasanya pH ini akan berubah bila bakteri mulai bertumbuh dan menghasilkan zat tertentu ke medianya sehingga terjadi perubahan derajat keasaman. Perubahan derajat keasaman yang tinggi pada akhirnya akan menghambat pertumbuhan bakteri itu sendiri (Wahyuni and Wahyuni, 2017). Untuk mengatasi perubahan pH ini, maka perlu ditambahkan zat buffer ke media, seperti KH_2PO_4 atau K_2HPO_4 .

Kebutuhan-kebutuhan tambahan untuk bakteri-bakteri tertentu bisa berupa cahaya, seperti pada bakteri fotoautotrof. Mungkin juga tambahan kadar garam bila bakteri yang akan dibiakkan tersebut berasal dari laut atau rawa.

7.7 Penyediaan Biakan Murni

Saat peneliti meneliti satu koloni bakteri, biasanya dibiakkan dulu di media cair seperti nutrient broth, maka bakteri yang tumbuh pada media tersebut terdiri atas berbagai macam bakteri. Demikian pula halnya bila ditanam di media agar padat. Hal semacam ini tentu membuat peneliti sulit untuk mengisolasi bakteri yang dibutuhkannya. Untuk itu peneliti harus membuat satu biakan murni agar bakteri yang tumbuh pada satu media hanya terdiri atas satu jenis bakteri saja.

Teknik yang digunakan untuk membuat biakan murni adalah dengan menggunakan teknik streak plate dan spread plate. Untuk streak plate menggunakan loop inokulasi atau kapas yang disterilkan terlebih dahulu, dan dimasukkan ke dalam inokulum biakan campuran. Kemudian loop digoreskan ke media agar dengan pola zig-zag pada permukaan media. Sedangkan pada teknik spread plate, inokulum disebarkan merata ke seluruh permukaan media.

Setelah bakteri tumbuh di sepanjang pola zig-zag atau permukaan, bakteri itu dapat diambil dengan menggunakan metode yang sama seperti streak plate dan melakukan hal yang sama pada media agar yang lain, dilakukan beberapa kali sampai didapatkan bakteri biakan murni yang diinginkan (Al-Awwaly and Manab, 2007). Hal yang sama juga dilakukan pada model spread plate.

Teknik pour plate atau agar tuang adalah dengan mencampurkan suspensi bakteri dan agar cair yang agak hangat ke cawan petri bersamaan dan dibiarkan memadat, dan setelah itu baru diinkubasi. Setelah padat dalam beberapa hari, akan terlihat banyak koloni-koloni bakteri yang tumbuh baik di permukaan cawan petri dan di bagian dalamnya. Hal ini untuk mengetahui koloni bakteri mana yang bersifat aerob dan koloni mana yang bersifat anaerob.

7.8 Prosedur Pemiakan Bakteri

Hal pertama yang harus dilakukan untuk pembiakan bakteri adalah pensterilan semua alat cawan petri, test tube, loop, dan alat-alat lainnya yang akan digunakan. Alat sterilisasi yang baik digunakan ialah autoclave atau pressure cooker. Dan kondisi lingkungan inokulasi harus aseptik, atau bebas kuman, agar media dan biakan bakteri tidak terkontaminasi.

Bakteri pertama sekali dibiakkan pada nutrient broth. Dan bakteri yang tumbuh ini merupakan biakan campuran, artinya terdiri atas berbagai ragam bakteri. Maka langkah selanjutnya adalah membuat suatu biakan murni untuk mendapatkan bakteri yang sesuai dengan keinginan kita. Jenis media yang digunakan disesuaikan dengan jenis bakteri apa yang kita inginkan (Nani Cahyanti et al., 2021). Misalnya untuk mendapatkan biakan murni bakteri dari golongan coliform, kita bisa menggunakan media EMB.

Bakteri dari biakan campuran bisa dipindahkan ke media padat agar dengan teknik streak plate dan spread plate, atau dengan pour plate. Dan juga bisa menggunakan teknik tusukan, artinya bakteri dipindahkan dari media nutrient broth ke media padat dengan cara menusukkan kawat yang telah dicelupkan ke nutrient broth ke media padat. Setelah pemindahan biakan, kemudian disimpan di inkubator pada suhu tertentu sesuai dengan kebutuhan bakteri tersebut. Pemindahan bakteri ke media selanjutnya setelah dari inkubator bisa dilakukan beberapa kali hingga kita mendapatkan biakan murni sesuai keinginan.

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan menguji karakteristiknya seperti bentuk, adanya flagel, kebutuhan oksigen, kebutuhan nutrisi khusus, kemampuan hemolisis, kemampuan memfermentasi gula khusus, kemampuan merubah zat indikator tertentu, dan lain sebagainya.

Bab 8

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

8.1 Pendahuluan

Mikroba membutuhkan lingkungan pertumbuhan yang kompleks. Media pertumbuhan atau media kultur adalah campuran nutrisi yang mendukung pertumbuhan organisme. Robert Koch, ilmuwan yang dikenal karena postulat penyakitnya, mengumpulkan tim peneliti pertama yang menggunakan agar-agar, polisakarida dari rumput laut, sebagai media pertumbuhan. Agar merupakan bahan pematat yang ideal untuk kultur bakteri, memungkinkan isolasi dan identifikasi spesies individu. (Norman-McKay, 2019)

Mikroba ditanam menggunakan berbagai media. Berbagai macam media kultur membantu proses pertumbuhan mikroba pada media. Media berdasarkan keadaan fisiknya yaitu berbentuk cair, padat, atau semi padat, yang kandungannya dapat terdiri dari berbagai komposisi kimia, dan dengan fungsi yang berbeda. Keadaan Fisik: Media Cair, Padat, dan Semi Padat. Jenis media yang digunakan tergantung pada aplikasi. Bentuk cair, juga disebut media kaldu (broth), sangat ideal untuk menumbuhkan sejumlah besar mikroba. mereka juga digunakan untuk mempelajari sifat metabolisme tertentu dari bakteri yang diisolasi. Media padat berguna untuk mengisolasi koloni dan mengamati karakteristik kultur mikroba tertentu. Mereka juga digunakan untuk mengisolasi bakteri menjadi kultur murni menggunakan teknik isolasi pelat

goresan. Aplikasi media semi solid yang paling umum adalah untuk uji motilitas.

8.2 Isolasi Bakteri

Proses pengambilan, penyiapan sampel, isolasi, menghitung, dan mengidentifikasi mikroba penting dalam mikrobiologi. Pekerjaan dalam bidang mikrobiologi membutuhkan Teknik yang khusus. Teknik aseptik adalah metode yang dirancang untuk mencegah masuknya mikroba yang terkontaminasi ke pasien, sampel klinis, atau orang lain dalam pengaturan perawatan kesehatan. Di Rumah sakit atau klinik, Petugas kesehatan menerapkan teknik ini sebagai bagian rutin dari perawatan pasien ketika memberikan suntikan atau mengumpulkan sampel klinis untuk analisis mikrobiologis. Analisis klinis sering melibatkan isolasi patogen, identifikasi, dan pencacahan. (Norman-McKay, 2019)

8.2.1 Teknik Kultur Aseptik

Mikroba tidak cenderung tumbuh dalam kultur murni. Mikroba jarang ada sebagai kelompok spesies tunggal. Dengan demikian, seringkali diperlukan cara untuk mengisolasi jenis mikroba tertentu dari berbagai sampel yang dikumpulkan. Karakterisasi kultur tergantung pada teknik kultur aseptik, di mana kondisi dipertahankan untuk menghambat kontaminan, sehingga hanya mikroba tertentu dalam sampel tertentu yang tumbuh. Sebagai bagian dari teknik kultur aseptik, media yang digunakan untuk menumbuhkan spesimen adalah steril, instrumen dan peralatan laboratorium (tabung, piring, instrumen inokulasi) yang langsung menyentuh spesimen juga harus steril. (Norman-McKay, 2019)

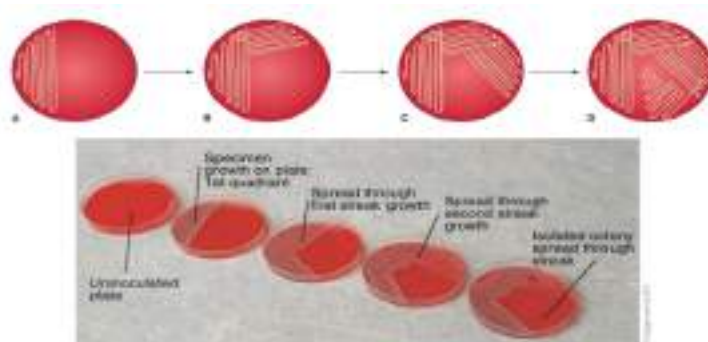
Teknik isolasi Mikroba dapat menggunakan berbagai Teknik. Penggunaan Teknik Streak Plate untuk mengidentifikasi bakteri patogen potensial dalam spesimen klinis. Tahap awal yang dilakukan adalah harus memisahkan organisme lain dalam sampel/spesimen. Cara paling umum adalah teknik streak plate. Metode ini dilakukan dengan menggores kultur pada pelat agar sehingga sel-sel individual dipisahkan satu sama lain di atas permukaan medium. Pada proses inkubasi, sel membelah, populasi mereka meningkat untuk membentuk gundukan sel yang disebut koloni. Setelah masa inkubasi,

banyak koloni terisolasi mudah terlihat tumbuh di plate agar. (berasumsi bahwa satu sel menghasilkan koloni tunggal, maka dapat mengatakan bahwa koloni mewakili garis murni mikroba tertentu).. Jika beberapa spesies mikroba tumbuh di piring, mungkin akan terlihat campuran koloni yang menunjukkan berbagai bentuk, warna, kilap, dan tekstur.

Teknik kultur murni: Pelat goresan, Tuang piring–loop, dilusi, Spread plate.

1. Teknik streak plate

Teknik streak plate membantu mengisolasi spesies mikroba tertentu. Tujuan umumnya adalah untuk menyebarkan sampel cukup tipis pada agar plate, sehingga berbagai sel dalam sampel cukup terpisah dan menimbulkan koloni individu. Koloni adalah pengelompokan sel yang dikembangkan dari sel induk tunggal. Sel-sel dalam koloni secara genetik identik dengan sel induk; Karakteristik koloni pada plate agar dapat membantu untuk mengidentifikasi spesies mikroba. Sebagai contoh, beberapa bakteri tumbuh menghasilkan koloni yang berwarna yang berbeda, dan beberapa memiliki karakteristik untuk koloni Teknik streak plate membantu mengisolasi spesies mikroba tertentu.



Gambar 8.1: Teknik Streak Plate pada Media Plate Agar (Reynolds and P., 2012)

Kultur murni diperoleh dengan memilih koloni tunggal dari campuran ke subkultur ke media agar atau kaldu lain., subkultur hanya akan berisi populasi bakteri tunggal. Koloni Bakteri Tunggal ini dapat dilanjutkan untuk proses identifikasi organisme, terutama

dengan memeriksa karakteristik morfologi koloni, sifat biokimia dan imunologi. Teknik kultur murni sangat penting untuk keberhasilan identifikasi mikroorganisme yang akurat (Paul A. Granato Verna Morton, 2019)

2. Metode streak plate alternatif adalah Metode alternatif ini digunakan untuk menyebarkan sampel menggunakan loop di atas permukaan agar plate. yang memiliki kuadran yang diletakkan secara jelas untuk referensi cepat. Metode ini dapat dibantu dengan menggunakan spidol, untuk menggambar dua garis yang membelah di bagian bawah cawan petri untuk membagi cawan menjadi 4 bagian yang sama. Beri label nama setiap kuadran 1 sampai 4, dimulai dengan kuadran kanan atas dan penghitung label searah jarum jam.
3. Teknik spread-plate. Teknik ini menggunakan campuran mikroorganisme yang telah diencerkan. Selama inokulasi, sel-sel disebar di permukaan media agar padat dengan steril, batang "L" atau batang kaca bengkok steril sementara cawan Petri diputar di atas meja putar. Saat meja putar berputar, sentuh ringan batang bengkok steril ke permukaan agar dan gerakkan maju mundur. Ini akan menyebarkan budaya di atas permukaan agar-agar.
4. Teknik plate tuang. Teknik ini membutuhkan pengenceran serial kultur campuran dengan menggunakan loop atau pipet. Inokulum yang diencerkan kemudian ditambahkan ke media agar cair dalam cawan Petri, dicampur, dan dibiarkan mengeras. (Cappuccino and Welsh, 2017)

8.2.2 Media Kultur

Berbagai macam media kultur digunakan untuk menumbuhkan mikroba. Media berdasarkan keadaan fisiknya (cair, padat, atau semi padat), komposisi kimianya, dan fungsinya. Bentuk cair, juga disebut media kaldu (broth), sangat ideal untuk menumbuhkan sejumlah besar mikroba. juga dapat digunakan untuk mempelajari sifat metabolisme dari bakteri yang terisolasi. Media cair tidak memiliki zat padat dan disebut media kaldu. Media kaldu berguna untuk budidaya jumlah sel bakteri yang tinggi dalam volume kecil sedang, yang sangat membantu ketika pengujian membutuhkan sejumlah besar sel bakteri

sehat. Media padat untuk mengisolasi koloni dan mengamati karakteristik kultur tertentu. Media padat juga digunakan untuk mengisolasi bakteri menjadi kultur murni menggunakan teknik isolasi goresan plate (Streak plate).

Media kaldu yang dilengkapi dengan zat pematid yang disebut agar menghasilkan media padat atau semi padat. Bahan seperti Agar-agar, ekstrak rumput laut, adalah karbohidrat kompleks yang terutama terdiri dari galaktosa, dan tanpa nilai gizi. Agar berfungsi sebagai bahan pematid yang sangat baik karena mencair pada 100 °C dan menjadi padat pada 40 °C. Karena sifat-sifat ini, organisme, terutama patogen, dapat dibudidayakan pada suhu 37,5 °C atau sedikit lebih tinggi tanpa pencairan media agar. . Media agar padat membutuhkan konsentrasi Agar 1,5% hingga 1,8%. Konsentrasi agar kurang dari 1% menghasilkan media semi padat. Media semi-padat berguna untuk menguji kemampuan sel untuk tumbuh di dalam agar pada tingkat oksigen yang lebih rendah dan menguji motilitas spesies. Media semi solid yang paling umum adalah untuk uji motilitas untuk menentukan apakah terisolasi.

Setiap koloni adalah sekelompok sel yang berasal dari perkalian sel tunggal dan mewakili pertumbuhan satu spesies mikroorganisme. Koloni yang terdefinisi dan terisolasi dengan baik seperti itu adalah budaya murni.



Gambar 8.2: Media Agar Plate dan Agar Miring pada Tabung Reaksi

1. Media Kompleks

Media kompleks (juga disebut media yang diperkaya) mengandung campuran bahan nutrisi organik dan anorganik. Sebaliknya, juga dapat mengandung bahan-bahan yang lebih kompleks seperti darah, protein susu, atau ekstrak ragi. Media kompleks sering digunakan untuk menumbuhkan organisme yang sulit tumbuh pada media bias.

Media ini juga digunakan untuk menumbuhkan koleksi heterotrof yang luas dan ideal untuk mengisolasi patogen dari sampel klinis.

2. Function (Differential and Selective Media)

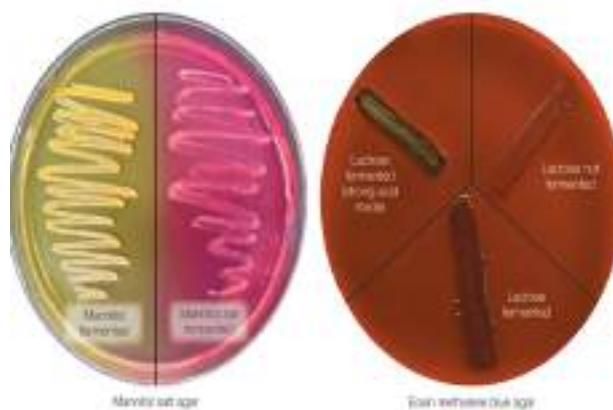
Fungsi (Media Diferensial dan Selektif), misalnya pada Sampel urin, usap tenggorokan, dan sampel tinja (tinja) adalah contoh spesimen klonikal yang biasa dianalisis di laboratorium mikrobiologi. Sampel klinis ini bukan kultur murni; mengandung berbagai macam mikroba, yang sebagian besar tidak berbahaya, mikrobiota normal. Oleh karena itu, mikroba patogen perlu dipisahkan dari mikrobiota normal. Beberapa alat yang paling membantu untuk melakukan ini adalah media selektif dan diferensial.

Media diferensial membuat koloni bakteri dengan sifat fisiologis yang berbeda dari satu sama lain sehingga memunculkan warna yang berbeda pada medium atau medium itu sendiri dapat berubah warna sebagai respons terhadap keberadaan bakteri tertentu. Contoh media diferensial adalah Agar Darah. Ini mengandung sel darah merah domba yang berfungsi sebagai nutrisi dan indikator pembeda. Beberapa bakteri patogen melisiskan (memecah) sel darah merah untuk nutrisi dengan melepaskan enzim yang disebut hemolysin.

Selain itu media selektif memiliki sifat spesifik. dengan memasukkan bahan-bahan dalam media yang mendorong pertumbuhan bakteri tertentu namun media tersebut juga mampu menekan pertumbuhan mikroba lain. Contoh media adalah Mannitol salt agar (MSA) selektif karena kandungan garamnya yang tinggi. Sebagian besar bakteri tidak dapat tumbuh pada media ini. Pengecualian penting adalah spesies *Staphylococcus*, yang merupakan bakteri Gram-positif yang mentolerir garam tinggi dan umumnya ditemukan pada kulit manusia. MSA juga membedakan organisme berdasarkan kemampuan mereka untuk memfermentasi gula yang disebut manitol.

Spesies *Staphylococcus* patogen seperti *S. aureus* adalah fermentasi manitol, sedangkan sebagian besar *S. epidermidis* non patogen tidak dapat memfermentasi manitol. Mannitol fermentasi menghasilkan warna kuning cerah ke media MSA yang biasanya merah. Eosin

methylene blue agar (EMB) adalah media umum lainnya dengan kemampuan selektif dan diferensial. Ini mengandung pewarna eosin dan metilen biru, yang membatasi pertumbuhan bakteri Gram-positif, sementara memungkinkan bakteri Gram-negatif tumbuh. membedakan antara spesies Gram-negatif berdasarkan kemampuan mereka untuk memfermentasi gula laktosa. Sebagian besar bakteri fermentasi laktosa muncul sebagai koloni merah muda gelap, meskipun warna hijau metalik sering terlihat. Bakteri gram negatif yang tidak memfermentasi laktosa, seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella enterica*, tampak tidak berwarna pada agar EMB



Gambar 8.3: Pertumbuhan Mikroba dalam Media Manitol Salt Agar (MSA) dan media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)

3. Anaerobic Media

Kultur organisme anaerob seperti *Bacteroides*, sering dikaitkan dengan infeksi perut, membutuhkan plat agar darah yang dibuat secara anaerobik dan dipelihara di dalam ruang anaerob. Sampel dan peralatan ditempatkan di kompartemen samping, dan kemudian nitrogen dan / atau CO₂ disalurkan ke dalam ruang untuk menggantikan semua oksigen sebelum bahan dipindahkan ke bagian utama ruang anaerobik.

8.2.3 Peralatan laboratorium dan teknik kultur Isolasi kultur murni

Peralatan/bahan seperti Media dalam bentuk cair/kaldu, Semi Padat, Padatan, (Agar miring, plate agar), Autoclave, Pembakar Bunsen, Microincinerator Tabung kultur, Cawan petri, Loop kawat dan jarum Pipet (untuk memindahkan koloni), Waterbath , Inkubator (untuk inkubasi), Lemari es.

1. Tabung Kultur dan Cawan Petri

Tabung reaksi kaca dan cawan Petri kaca atau plastik digunakan untuk membudidayakan mikroorganisme. Media nutrisi yang cocok dalam bentuk kaldu atau agar dapat ditambahkan ke tabung, sementara hanya media padat yang digunakan dalam cawan Petri. Saat inkubasi, cawan petri diinkubasi dalam posisi terbalik (atas ke bawah) untuk mencegah terbentuknya kondensasi pada penutup selama pemadatan dari jatuh ke permukaan agar yang mengeras.

2. Instrumen Transfer

Mikroorganisme harus dipindahkan dari satu kultur stok ke berbagai media untuk pertumbuhan dan studi. Pemindahan ini menghasilkan subkultur dan harus dilakukan dalam kondisi aseptik guna mencegah kontaminasi. Kawat loop dan jarum terbuat dari logam seperti Nichrome atau platinum dan dimasukkan ke dalam poros logam/kaca yang berfungsi sebagai pegangan. dan mudah disterilkan dengan pembakaran di bagian biru (terpanas) dari api pembakar Bunsen. Loop kawat berguna untuk memindahkan sejumlah kecil bakteri ke permukaan agar plate atau miring. Jarum digunakan terutama untuk menginokulasi kultur ke dalam media kaldu atau ke dalam tabung agar-agar. Pipet adalah instrumen lain yang digunakan untuk transfer aseptik

3. Ruang Budidaya (Inkubator)

Inkubator merupakan alat yang digunakan untuk menginkubasi media yang mengandung mikroba., umumnya menggunakan panas kering. Kelembaban disuplai dengan menempatkan gelas air di inkubator selama periode pertumbuhan. Lingkungan yang lembab menghambat

dehidrasi medium dan dengan demikian menghindari hasil penelitian yang salah.

4. Kulkas

Kulkas digunakan untuk pemeliharaan dan penyimpanan kultur stok antara periode subkultur, dan penyimpanan media steril untuk mencegah dehidrasi. Ini juga digunakan sebagai repositori untuk larutan termolabil, antibiotik, serum, dan reagen biokimia.

8.2.4 Metode Sterilisasi

Beberapa metode sterilisasi adalah

1. Metode panas

- a. Kering (udara panas) Panas: 160° hingga 180°C selama 1 1/2 hingga 3 jam; digunakan untuk mensterilkan alat gelas kosong, pipet kaca, dan jarum suntik kaca
- b. Lembab (panas basah): Uap yang mengalir bebas pada suhu 100°C (sterilisasi intermiten); digunakan untuk larutan termolabil (misalnya, gula, susu). Autoklaf, uap di bawah tekanan, suhu di atas 100°C; untuk media kultur, jarum suntik, larutan termostabil, dll.

2. Filtrasi

Filter membran selulosa-asetat dengan ukuran pori dalam kisaran 8,0 µm hingga kurang dari 0,05 µm ; memindahkan organisme dari larutan termolabil dengan melewati filter yang mempertahankan bakteri; Catatan, virus tidak dipindahkan oleh prosedur ini

3. Bahan kimia:

- a. Etilen oksida ; Piring plastik dan pipet
- b. Beta-propiolakton ; Jaringan hidup

4. Radiasi

Pengion; untuk Pipet plastik dan cawan petri

8.2.5 Teknik Pemindahan Kultur

Prinsip pemindahan mikroorganisme dari satu media ke media lain dengan subkultur. Teknik ini sangat penting dan digunakan secara rutin dalam

persiapan dan pemeliharaan stok kultur, serta dalam prosedur uji mikrobiologis. Mikroorganisme selalu ada di udara dan di permukaan laboratorium, meja, dan peralatan. Mikroorganisme ambien ini dapat menjadi kontaminan eksternal dan mengganggu hasil eksperimen kecuali teknik aseptik yang tepat digunakan selama subkultur.



Gambar 8.4: Teknik pemindahan kultur (Norman-McKay, 2019)

8.3 Identifikasi Bakteri

Metode untuk mengidentifikasi mikroba yaitu analisis fisik, biokimia, dan genetik. Analisis fisik biasanya melibatkan mikroskop dan teknik pewarnaan, seperti pewarnaan Gram, untuk mengamati fitur morfologi. Analisis biokimia melibatkan berbagai media yang menilai sifat metabolisme mikroba yang diisolasi. Banyak media uji biokimia memiliki sifat selektif dan diferensial. Sekarang ini Metode genetik juga membantu mengidentifikasi mikroba dengan cepat. Probe yang mengikat urutan genetik spesifik dapat dengan cepat mengklasifikasikan spesies patogen. Polymerase chain reaction (PCR) dapat

mengungkapkan urutan genetik yang menunjukkan strain tertentu bahkan jika hadir dalam jumlah kecil. DNA "sidik jari" adalah metode genetik lain yang menggunakan enzim khusus untuk memotong DNA genom sampel bakteri. (Norman-McKay, 2019)

8.3.1 Pewarnaan

Spesimen sering diwarnai sebelum dilihat dengan mikroskop. Sebagian besar teknik pewarnaan bakteri melibatkan pembuatan apusan spesimen, di mana sejumlah kecil sampel ditempatkan pada slide kaca. Dalam sebagian besar teknik pewarnaan, apusan difiksasi dengan bantuan panas atau reagen kimia. Fiksasi menyebabkan sampel melekat ke slide, sehingga tidak mudah tercucikan selama proses pewarnaan, dan membunuh sebagian besar sel dalam spesimen, sehingga lebih aman untuk ditangani.

Pewarna yang digunakan adalah molekul organik dengan warna yang berbeda. Yang paling umum kadang-kadang disebut pewarna dasar. Pewarna dasar yang sering digunakan termasuk biru metilen, violet kristal, safranin, dan hijau perunggu. Kadang-kadang pewarna asam, seperti nigrosin atau tinta India, juga digunakan. Pewarna asam bermuatan negatif, sehingga mereka tidak mudah memasuki sel. Mereka mewarnai latar belakang spesimen dalam teknik yang disebut pewarnaan negatif.

Keuntungan dari pewarnaan negatif adalah tidak memerlukan pemanasan atau fiksasi kimia, dan pewarna tidak diserap oleh sampel

1. Pewarnaan sederhana

Teknik pewarnaan sederhana menggunakan satu pewarna. Biasanya ukuran, bentuk, dan pengaturan seluler yang dapat ditentukan dengan menggunakan noda sederhana. pewarna dasar seperti metilen biru selama sekitar satu menit. Kemudian apusan dibilas dengan air suling atau deionisasi untuk menghilangkan kelebihan pewarna. Deck gelas ditempatkan di atas apusan dan siap untuk dilihat dengan mikroskop cahaya

2. Pewarnaan struktur

Banyak mikroba memiliki struktur khusus yang dapat dilihat dengan menggunakan teknik pewarnaan yang memunculkan bagian mikroba. Bagian struktural ini untuk dilihat dengan mikroskop cahaya

Pewarnaan Flagel prokariotik dapat memiliki flagela tunggal atau ganda dengan susunan yang beragam. Jumlah dan posisi flagela dapat membantu mengidentifikasi mikroba, membuat teknik pewarnaan untuk melihat flagela

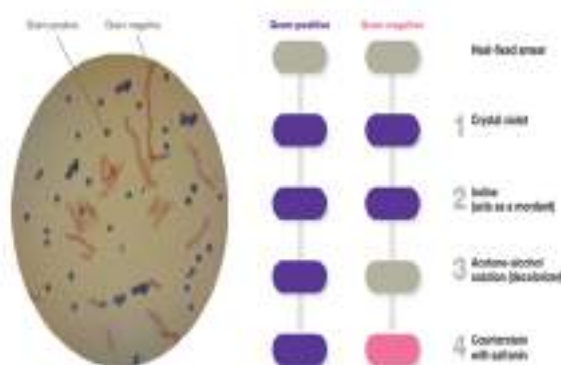
- a. Kapsul Pewarnaan Kapsul adalah struktur berbasis karbohidrat lengket yang diproduksi beberapa bakteri sebagai bentuk perlindungan dan juga untuk membantu mereka menempel pada permukaan. Patogen tertentu memerlukan kapsul untuk membentuk infeksi. Karena kapsul mudah larut dalam air dan tidak mudah mengambil pewarna dasar, teknik pewarnaan negatif menggunakan pewarna asam biasanya digunakan dalam koordinasi dengan pewarna dasar.
- b. Pewarnaan Endospora Bakteri Endospora adalah struktur dorman khusus yang dibuat oleh bakteri tertentu, termasuk spesies *Bacillus*, sebagai respons terhadap kondisi stres atau keras. Sangat sedikit bakteri yang membentuknya, sehingga mendeteksi presensi endospora berguna untuk klasifikasi. Karena endospora memiliki lapisan spora yang keras yang tahan terhadap pewarnaan, teknik ini melibatkan pemanasan spesimen untuk mendorong pewarna, biasanya hijau perunggu, ke dalam spora. Pewarna berlebih dibilas dan pewarna kedua, biasanya safranin,



Gambar 8.5: Pewarnaan Struktur Bakteri (Norman-McKay, 2019)

3. Pewarnaan Diferensial:

Pewarnaan diferensial untuk membedakan dinding sel bakteri dari berbagai kelas sel. Dua pewarnaan diferensial yang paling umum digunakan dalam mikrobiologi adalah pewarnaan Gram dan pewarnaan asam-cepat. Pewarnaan Gram adalah salah satu pewarnaan terpenting dalam mikrobiologi. Proses ini mengklasifikasikan bakteri sebagai Gram-positif atau Gram-negatif. Gram spesimen memiliki implikasi klinis yang penting, termasuk fitur patogen. prosedur pewarnaan Gram hanya menyoroti perbedaan dalam struktur dinding sel. Bagian tersulit dari pewarnaan Gram adalah langkah decolorizing



Gambar 8.6: Pewarnaan Gram (Norman-McKay, 2019)

Pewarnaan asam-cepat adalah pewarnaan diferensial yang membedakan antara sel dengan dan tanpa dinding sel lilin. Bakteri asam-cepat memiliki dinding sel lilin yang kaya akan zat yang disebut asam mikolat; Mereka mempertahankan pewarna primer berwarna merah bahkan setelah terkena pencucian asam. Secara klinis, pewarnaan asam-cepat adalah alat diagnostik penting untuk mendeteksi spesies *Mycobacterium* seperti agen penyebab tuberkulosis dan kusta

8.3.2 Karakteristik Morfologis

Karakteristik Morfologis Ini termasuk karakteristik fisik yang tidak diketahui pada tingkat makroskopik (koloni) dan mikroskopis (seluler). Ukuran, bentuk,

dan pigmen koloni bersama dengan bentuk dan ukuran sel, motilitas, dan reaksi terhadap pewarnaan Gram, asam-cepat, dan endospora semuanya dapat berperan dalam identifikasi.

Karakteristik kultur meliputi pertumbuhan pada media cair dan padat serta penggunaan oksigen. Karakteristik Morfologis Reaksi Gram, Bentuk sel, Pengaturan: Endospora, Asam-cepat, Kapsul. Karakteristik Kultur, Motilitas, Morfologi koloni, Penampilan kultur miring agar-agar: Penampilan kultur kaldu/broth: Kebutuhan oksigen: Suhu optimal, Hemolisis pada agar darah.

8.3.3 Uji Biokimia dan Fisiologi

Spesi Uji biokimia terdiri dari berbagai uji termasuk beragam uji. Uji ini mengevaluasi bakteri untuk keberadaan reaksi enzimatik tertentu. Untuk mengetahui spesies bakteri, uji biokimia berperan penting dalam identifikasi bakteri. Inokulasi pada media diferensial diikuti dengan inkubasi digunakan untuk mendeteksi ada atau tidak adanya enzim tertentu. keberadaan enzim terdeteksi secara kimia, tanpa inkubasi, yang mengarah ke hasil langsung.

Karakteristik fisiologis/biokimia yaitu Tes fermentasi karbohidrat: meliputi pembentukan asam dan gas pada reaksi dengan Glukosa: Laktosa: Sukrosa: Manitol: Maltosa: Arabinosa: Ribosa: Rafinosa: Galaktosa Xilosa:

Tes biokimia pada SIM: Sulfur (H₂S): Indol: Motilitas: Metil merah: Voges-Proskauer: Pemanfaatan sitrat: Reduksi nitrat menjadi nitrit: Reduksi total nitrat: Urease: Katalase: Oksidase: Fenilalanase: Gelatinase: Amilase (pati): Lipase: DNase: Arginin dekarboksilase: Dekarboksilase lisin: Ornithine dekarboksilase: Koagulase:

8.3.4 Karakteristik Fisiologis: Teroksidasi dan Fermentasi

Jumlah total reaksi kimia yang terjadi dalam sel disebut sebagai metabolisme, dan reaksi kimia individual yang membentuk jalur metabolisme dalam sel dikatalisis oleh molekul protein yang disebut enzim. Sebagian besar enzim berfungsi di dalam sel di mana jalur metabolisme melakukan pemecahan (katabolisme) bahan makanan dan biosintesis konstituen sel (anabolisme). Karena bakteri tidak dapat melakukan fagositosis karena dinding sel mereka yang kaku, mereka mengeluarkan eksoenzim yang berfungsi di luar sel untuk mengurai makromolekul besar. Sebagai contoh, eksoenzim memecah protein dan polisakarida menjadi asam amino dan monosakarida, masing-masing,

yang kemudian diangkut ke dalam sel. Protease, DNase, dan amilase adalah contoh eksoenzim

Gula, terutama glukosa, adalah senyawa yang umumnya difermentasi oleh digunakan oleh organisme. Namun, senyawa lain seperti asam organik, asam amino, dan lemak difermentasi oleh bakteri. Produk akhir dari fermentasi tertentu seperti "sidik jari" untuk suatu organisme dan dapat digunakan dalam identifikasi. Sebagai contoh, Escherichia dapat dibedakan dari Enterobacter aerogenes.



Gambar 8.7: Evaluasi dan test (Alfred and Heidi, 2015)

Beberapa Outline untuk mengidentifikasi bakteri dapat disajikan pada bagan Outline berikut ini. (Barry Chess, 2020):

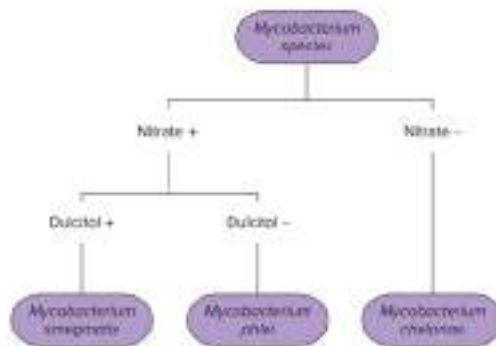
1. Jika pewarnaan Gram menunjukkan basil Gram-positif, proses identifikasi dapat dimulai dari identifikasi genus lalu identifikasi spesies sesuai outline yang ada.



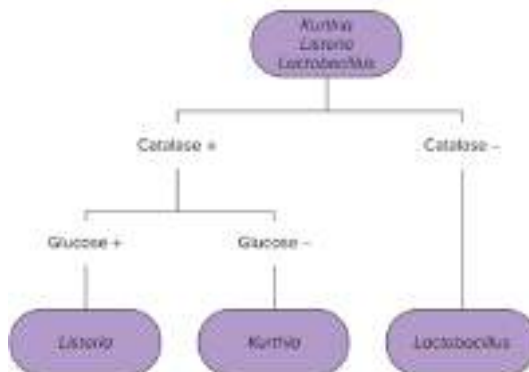
Gambar 8.8: Outline pemisahan untuk batang Gram-positif



Gambar 8.9: Outline pemisahan untuk spesies *Bacillus* terpilih.

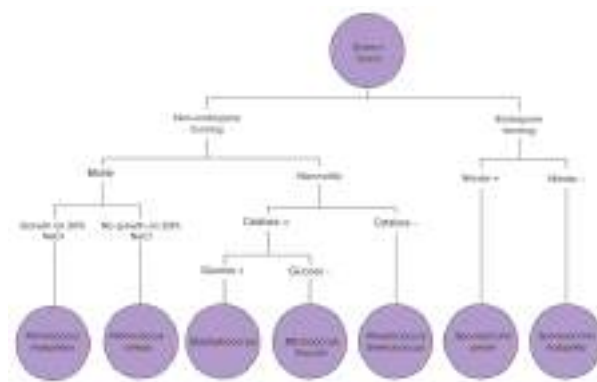


Gambar 8.10: Outline untuk spesies *Mycobacterium*

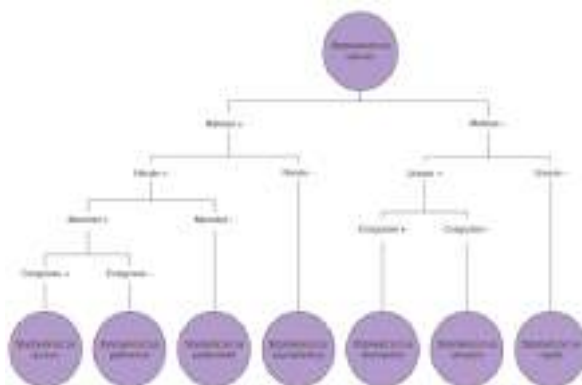


Gambar 8.11: Outline pemisahan *Kurthia*, *Listeria*, and *Lactobacillus* Genera.

2. Pewarnaan Gram menunjukkan kokus Gram-positif, proses identifikasi dimulai setelah mengidentifikasi genus yang tidak diketahui, dilanjutkan untuk menyelesaikan proses identifikasi . (Barry Chess, 2020)



Gambar 8.12: Outline pemisahan Gram-positive cocci



Gambar 8.13: Outline pemisahan spesies Staphylococcus

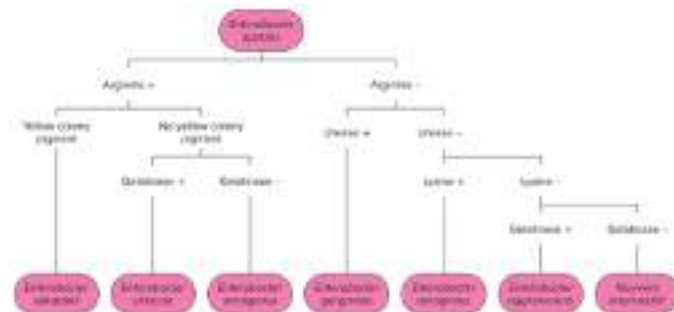
3. Jika pewarnaan Gram Anda menunjukkan organisme Gram-negatif, proses identifikasi dimulai setelah mengidentifikasi genus yang tidak diketahui, dilanjutkan untuk menyelesaikan proses identifikasi.



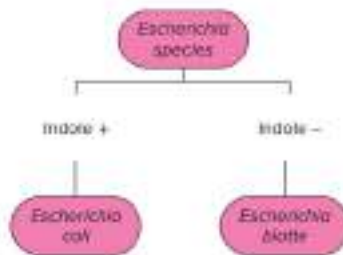
Gambar 8.14: Outline pemisahan Gram-negative rods and cocci



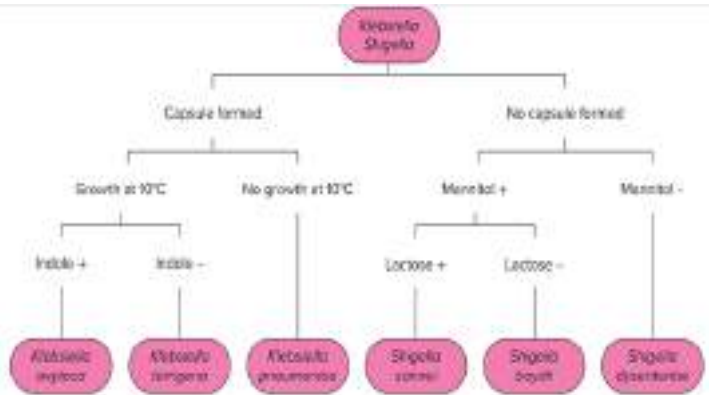
Gambar 8.15: Outline pemisahan Citrobacter, Enterobacter, Salmonella, Providencia, Escherichia, Proteus, and Morganell



Gambar 8.16: Outline pemisahan untuk species Enterobacter



Gambar 8.17: Outline pemisahan untuk spesies Escherichia



Gambar 8.18: Outline pemisahan untuk spesies Klebsiella dan Shigella

Bab 9

Karakterisasi Enterobacteriaceae

9.1 Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae merupakan salah satu family bakteri prokariot yang dikenal memiliki dampak besar pada bidang medis, kesehatan masyarakat, dan kedokteran hewan terhadap komunitas global. Kelompok bakteri ini tidak hanya berkaitan erat dengan berbagai penyakit klinis, tetapi juga merupakan agen utama penyebab keracunan makanan (foodborne disease) dan infeksi zoonosis yang dapat membawa wabah sporadis bahkan menyebabkan pandemi (Janda & Abbott 2021). Enterobacteriaceae secara umum dikenal sebagai bakteri enterik dengan sebagian besar anggotanya bersifat patogen pada manusia dan hewan, seperti *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, dan *Yersinia pestis* (Adeolu et al. 2016). Selain itu, kelompok Enterobacteriaceae dapat ditemukan hidup tersebar luas di ekosistem alam, seperti hidup sebagai patogen pada ikan hasil budidaya akuakultur (Bujan et al. 2018), sebagai agen etiologi penyebab penyakit tanaman (Motyka et al. 2017), serta hidup di tanah dan air (Madigan et al. 2021). Genus *Dickeya*, *Pectobacterium*, *Brenneria*, *Erwinia*, dan *Pantoea* dikenal sebagai fitopatogen yang merugikan ekonomi global (Adeolu et al. 2016). Tidak hanya dikenal sebagai kelompok bakteri patogen, kelompok *Enterobacteriaceae* juga dikenal berpengaruh besar

terhadap bidang riset biologi molekuler dan sel, struktur dan fungsi gen, dan patogenisitas mikroorganisme (Janda & Abbott 2021).

Berdasarkan etimologi, *Enterobacteriaceae* berasal dari kata enteron, yaitu usus (intestine), sehingga kelompok bakteri tersebut dikenal sebagai bakteri saluran pencernaan atau enterik (Brenner & Farmer III 2015). *Family Enterobacteriaceae* dalam Ordo Enterobacteriales merupakan kelompok besar dan beragam dari bakteri Gram-negatif, aerob atau fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan sel berbentuk batang. *Family Enterobacteriaceae* diusulkan oleh Rahn pada tahun 1937 untuk memfasilitasi 112 spesies koleksi yang sebelumnya disebut sebagai “kelompok tifoid usus besar” (Janda & Abbott 2006). Pada tahun 1972, Edwards dan Ewing mendeskripsikan 11 genus dan 26 spesies dalam Family Enterobacteriaceae. Perkembangan taksonomi masa kini mengungkapkan terdapat 43 genus yang telah dideskripsikan dari *Enterobacteriaceae* (www.lpsn.dsmz.de/family/enterobacteriaceae).

Berdasarkan taksonomi tradisional, bakteri yang dikelompokkan dalam Family Enterobacteriaceae memiliki kesamaan karakter fenotipik, termasuk hasil pengecatan Gram (negatif) pada dinding selnya, pertumbuhan yang baik pada medium artifisial di laboratorium, pembentukan asam dari D-Glukosa (seringkali dengan terbentuknya gas), dan pembentukan senyawa nitrit dari nitrat. Meskipun Family Enterobacteriaceae telah ditemukan dari 100 tahun yang lalu, sebagian besar genus yang dideskripsikan pada masa tersebut seperti *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Shigella*, dan *Proteus* masih ada hingga taksonomi masa kini (Janda & Abbott 2021).

9.2 Taksonomi Enterobacteriaceae

Berdasarkan studi taksonomi, kelompok bakteri enterik diklasifikasikan dalam *Domain Bacteria* (Woese et al. 1990), *Phylum Pseudomonadota* (Oren & Garrity 2021), *Class Gammaproteobacteria* (Garrity et al. 2005), *Ordo Enterobacteriales* (Adeolu et al. 2016), dan *Family Enterobacteriaceae* (Rahn 1937). Jumlah genus dan spesies dalam Family Enterobacteriaceae berkembang pesat mengikuti perkembangan waktu. Pada tahun 1974 dalam edisi ke-8 monograf *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, terdapat 12 genus dan 36 spesies yang dideskripsikan (Buchanan & Gibbons 1974). Pada tahun 1984, ketika edisi pertama dari *Bergey's Manual of Systematic*

Bacteriology diterbitkan, anggota *Family Enterobacteriaceae* terdiri atas 20 genus dan 76 spesies (Krieg & Holt 1984). Sebanyak 30 genera dan 107 spesies dari *Family Enterobacteriaceae* dideskripsikan di monograf *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* pada tahun 1994 (Holt et al. 1994). Sejumlah 44 genus dan 176 spesies dari kelompok ini dideskripsikan di monograf *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* pada tahun 2005.

Enterobacteriaceae dibagi menjadi delapan *tribe* yaitu *Escherichieae*, *Edwardsiellae*, *Salmonelleae*, *Citrobactereae*, *Klebsiellae*, *Proteeae*, dan *Yersinieae*. *Tribe* tersebut kemudian dibagi menjadi genus dengan beberapa spesies. *Escherichia*, *Shigella*, *Edwardsiella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, dan *Yersinia* merupakan contoh genus dari *Family Enterobacteriaceae*.

Klasifikasi *Enterobacteriaceae* telah mengalami perkembangan dan perubahan dalam pengelompokan dan nomenklaturnya dalam 100 tahun sejak family tersebut dideskripsikan. Hubungan kekerabatan dari anggota *Enterobacteriaceae* ditentukan berdasarkan kemiripan DNANYa (DNA relatedness). Spesies yang berbeda dalam suatu genus memiliki setidaknya 20% kemiripan DNA dengan satu sama lain dan dengan *Escherichia coli* yang merupakan spesies tipe (*type species*) dari *Family Enterobacteriaceae*. Namun demikian, spesies dari *Plesiomonas*, *Yersinia*, *Proteus*, *Providencia*, *Hafnia*, *Edwardsiella*, *Xenorhabdus*, dan *Photorhabdus* memiliki kemiripan DNA sebesar 5 hingga 20% dengan spesies dari genus lain. Sebagian besar spesies telah dianalisis berdasarkan sequence gen 16S rRNA. Analisis sequence gen 16S rRNA dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu mikroorganisme hingga tingkat genus dan taksa yang lebih tinggi. Namun demikian, kekerabatan DNA juga dapat digunakan untuk memperkirakan perbedaan evolusioner dalam genus (Brenner & Farmer III 2015).

9.3 Karakteristik Enterobacteriaceae

Berdasarkan Kumar (2012) dan Madigan et al. (2021), anggota dari *Family Enterobacteriaceae* memiliki karakteristik umum, yaitu:

1. Bakteri Gram negatif berbentuk batang dan tidak membentuk endospora.

2. Bersifat aerob atau anaerob fakultatif dan tumbuh pada medium artifisial laboratorium seperti pada medium MacConkey's lactose bile-salt agar.
3. Melakukan fermentasi glukosa dengan menghasilkan asam atau asam dan gas.
4. Tidak memiliki alat gerak (nonmotil) atau bergerak dengan flagel tipe peritrichous.
5. Bersifat katalase positif (kecuali *Shigella dysenteriae* grup 1 dan *Xenorhabdus* yang bersifat katalase negatif).
6. Bersifat oksidase negatif (kecuali *Plesiomonas*).
7. Memiliki kemampuan mereduksi nitrat menjadi nitrit (dengan pengecualian biotipe tertentu dari *Enterobacter agglomerans* dan beberapa strain *Erwinia* dan *Yersinia* yang tidak dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit).
8. Merupakan parasit usus manusia dan hewan, meskipun beberapa spesies mungkin muncul di bagian lain pada tubuh, tumbuhan, dan di tanah.

Ukuran sel bakteri Enterobacteriaceae secara umum adalah $0,3-1,0 \times 1,0-6,0 \mu\text{m}$, kecuali *Arsenophonus* ($7-10 \mu\text{m}$). Sebagian besar Enterobacteriaceae tumbuh pada suhu $22-35 \text{ oC}$, dengan pertumbuhan optimum dari *Yersinia*, *Hafnia*, *Xenorhabdus*, *Photorhabdus*, dan *Erwinia* terjadi pada suhu $25-28 \text{ oC}$. Sebagian Enterobacteriaceae dapat memanfaatkan D-glukosa sebagai sumber karbon tunggal; sebagian memerlukan vitamin dan/atau asam amino. Enterobacteriaceae bersifat kemoorganotrofik; asam dan gas dapat dihasilkan dari fermentasi glukosa, karbohidrat lain dan alkohol polihidroksil; tidak bersifat halofilik. Kandungan G+C dari DNA adalah 38-60 Mol%, kecuali 63,5 untuk *Saccharobacter fermentatus* yaitu 63,5 Mol% (Brenner & Farmer III 2015).

9.4 Metabolisme Fermentatif

Enterobacteriaceae secara umum mampu memanfaatkan karbohidrat sebagai sumber nutrisi. Fermentasi gula terjadi pada kelompok tersebut dilakukan melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas dengan fermentasi asam campuran yang menghasilkan produk berupa asam laktat, asam asetat, asam suksinat, asam format, dan etanol. Variasi kuantitatif produk akhir yang terbentuk di antara strain yang berbeda dapat terjadi. Mungkin ada variasi besar dalam produk akhir yang terbentuk secara kuantitatif di antara strain yang berbeda dan bahkan di dalam strain yang sama pada kondisi fermentasi yang berbeda karena produk akhir terbentuk dari jalur independen (Patel et al. 2014).

Salah satu karakter metabolisme fermentatif yang unik dari *Enterobacter* dan *Serratia* serta beberapa spesies *Erwinia* adalah pembentukan produk akhir berupa butanediol. Sifat metabolik *Enterobacteriaceae* dapat digunakan sebagai landasan dalam mengkarakterisasi dan membedakan identitas dalam family tersebut. Uji biokimia dari beberapa anggota *Enterobacteriaceae* dan hasil pengujiannya dapat dilihat pada Tabel 10.4. Produksi gas CO₂ selama fermentasi merupakan karakter yang dapat digunakan untuk membedakan *E. coli* dengan patogen seperti *Shigella* dan *Salmonella* yang tidak menghasilkan gas. Fermentasi laktosa adalah ciri dari *Escherichia* dan *Enterobacter* (Patel et al. 2014).

Metode fermentasi laktosa dalam taksonomi tradisional digunakan untuk mengklasifikasi *Enterobacteriaceae* menjadi tiga kelompok bakteri, yaitu Lactose fermenters (LF), Late lactose fermenters, dan non lactose-fermenting (NLF). Spesimen ditumbuhkan pada medium MacConkey agar yang mengandung laktosa dan indikator merah netral. Bakteri yang memfermentasi laktosa membentuk asam dan pada pH asam, warna merah netral berwarna merah. Oleh karena itu, koloni bakteri yang dapat memfermentasi laktosa berwarna merah atau merah muda, sedangkan koloni bakteri yang tidak memfermentasi laktosa berwarna pucat. *Lactose-fermenting enterobacteria*, seperti *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, dan *Citrobacter* dikenal sebagai 'basil koliform' karena anggota paling umum dari kelompok ini bakteri berbentuk basil yang hidup di usus besar atau *Escherichia coli*. Patogen utama usus, yaitu *Salmonella* dan *Shigella*, merupakan *nonlactose-fermenting bacteria* (NLF). Terdapat sebagian kecil kelompok yang menunjukkan fermentasi laktosa akhir (Late lactose fermenters), yaitu pada 2-8 hari.

Kelompok tersebut merupakan komensal, kecuali *Shigella sonnei*. Kelompok tersebut dikenal sebagai basil parakolon (Patel et al. 2014).

Tabel 9.1: Uji Biokimia dari Beberapa Anggota Enterobacteriaceae

Anggota	Indole (dari triptofan)	Metil Red (produksi asam untuk menurunkan pH di bawah 4,4)	Voges-Proskauer (produksi asetoin)	Pemanfaatan nitrat
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-
<i>Shigella</i>	+	+	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	+	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+

9.5 Diferensiasi genus dan spesies

Genus dan spesies dari Family Enterobacteriaceae secara tradisional dikelompokkan berdasarkan pengujian karakter fenotipik, khususnya karakter biokimia. Pengujian karakter fenotipik yang dapat digunakan untuk ciri pembeda dari sebagian genus pada Enterobacteriaceae dapat dilihat pada Tabel 9.5.

Tabel 9.2: Karakter-karakter pembeda utama pada sebagian Genus dari Family Enterobacteriaceae (Kumar 2012)

Uji	<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Hafnia</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Morganella</i>	<i>Providentia</i>
Motilitas	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Gas dari glukosa	+	-	+	+	+	d	+	+	+	d	+	+
Asam dari laktosa	+	-	-	+	+	-	-	+		-	-	-

Asam dari sukrosa	d	-	-	+	+	+	-	d	-	d	-	d
Pertumbuhan di KCN	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Indole	+	d	+	-	-	-	-	d	-	d	+	+
Metil Red (MR)	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer (VP)	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Sitrat	-	-	-	+	+	+	+	+	+	d	d	d
H ₂ S	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Urease	-	-	-	+	d	-	-	-	-	+	+	d
Phenylalanine deaminase (PPA)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Arginine dehydrolase	d	-	-	-	d	-	-	d	+	-	-	-
Lysine decarboxylase	+	-	+	d	d	+	+	-	+	-	-	-
Ornithine decarboxylase	d	d	+	-	+	+	+	d	+	d	+	

(d = perbedaan hasil dapat terjadi pada spesies atau strain yang berbeda dalam satu genus). Pengecualian:

1. *Sh. sonnei* lambat dalam memfermentasi laktosa dan sukrosa.
2. *S. Typhi* tidak menghasilkan gas dari fermentasi gula.

9.5.1 Escherichia

Anggota dari Genus *Escherichia* merupakan bakteri motil dan nonmotil, membentuk asam dan gas dari hasil fermentasi karbohidrat, reaksi positif indol, positif MR, negatif VP, sitrat negatif (IMVIC + + - -) (Kumar 2012). Salisin dan dapat difermentasi oleh sebagian besar spesies, inositol tidak difermentasi, dan adonitol hanya difermentasi oleh satu spesies. Laktosa difermentasi dengan cepat oleh sebagian besar spesies pada genus tersebut. *Escherichia coli* (Migula) Castellani dan Chalmers adalah type strain dari genus *Escherichia*. *Escherichia coli* dapat dibedakan dari anggota Enterobacteriaceae lainnya berdasarkan kemampuannya memfermentasi

laktosa pada suhu 44° C dalam uji fecal coliform (coliform tinja), fermentasi gula yang berbeda, dan reaksi biokimiawi lainnya (Patel et al. 2014). *Escherichia coli* memiliki diameter sel 0,5 µm dengan panjang sel antara 1,0 hingga 3,0 µm dan tidak menghasilkan spora. Spesies tersebut dapat bertahan hidup selama 4 hingga 12 minggu di air. Sebagian strain dari spesies tersebut merupakan komensal dan sebagian patogen. Spesies tersebut dapat menyebabkan diare, kolitis hemoragik (diare berdarah), sindrom uremik hemolitik, disentri, infeksi saluran kemih, septicemia, dan meningitis neonatal (Khan & Gupta 2020).

9.5.2 *Citrobacter*

Anggota dari Genus *Citrobacter* merupakan bakteri enterik yang motil, menunjukkan reaksi positif atau negatif indol, positif MR, negatif VP, sitrat positif (IMViC - + - +), urease lemah positif dan mampu atau tidak mampu memfermentasi laktosa, secara umum menghasilkan β-galaktosidase (ONPG positif). Anggota dari genus tersebut tidak mendekarboksilasi lisin, namun sebagian besar strain mendekarboksilat ornitin. Tiga spesies umum yang dikenal, yaitu *Citrobacter freundii*, *Citro. koseri* (sebelumnya *Citro. diversus*), dan *Citro. amalonaticus* (tidak membentuk H₂S). *Citrobacter* spp. umumnya ditemukan dalam tinja manusia dan dapat diisolasi dari berbagai spesimen klinis. Bakteri tersebut dapat menyebabkan infeksi pada saluran kemih, kantung empedu, telinga tengah, dan meningen. *Citrobacter koseri* dapat menyebabkan meningitis neonatal (Kumar 2012).

9.5.3 *Edwardsiella*

Edwardsiella memiliki karakter yang menyerupai spesies dari *Citrobacter* dan tribe salmonellae dalam memproduksi H₂S dan tidak dapat menggunakan laktosa untuk melakukan metabolisme. Genus *Edwardsiella* dapat dibedakan dengan *Escherichia* karena kemampuannya memproduksi hidrogen sulfida dalam medium triple sugar iron agar. Anggota dari Genus *Edwardsiella* merupakan bakteri batang Gram-negatif, motil, tidak berkapsul, hanya memfermentasi glukosa dan maltosa (lemah), positif indol dan MR, serta negatif VP dan sitrat (IMViC + + - -). Selain itu, *Edwardsiella* menghasilkan H₂S dan mendekarboksilasi lisin dan ornitin. *Edwardsiella tarda* merupakan penghuni normal usus ular dan hewan berdarah dingin lainnya. Infeksi bakteri tersebut pada manusia dapat terjadi akibat adanya kontak dengan hewan berdarah dingin. Peranan bakteri *Edwardsiella* dalam menyebabkan diare

belum diketahui, namun genus tersebut dapat menyebabkan infeksi luka, meningitis dan septikemia (Kumar 2012).

9.5.4 Enterobacter

Anggota Genus Enterobacter berbentuk basil, motil, memfermentasi laktosa, memiliki kapsul, dan bersifat indol dan MR negatif, serta VP dan sitrat positif (IMViC - - + +). Karakteristik biokimia tersebut menyerupai Klebsiella namun dapat dibedakan dari Klebsiella karena bersifat Enterobacter motil dan ornitin positif (Kumar 2012). Dua spesies yang secara umum ditemukan pada kasus klinis adalah *E. cloacae* dan *E. aerogenes* (Goldman & Green 2015). Bakteri Enterobacter secara umum ditemukan dalam tinja, limbah, tanah dan air, dan jarang ditemukan dalam air seni, nanah, dan material patologis lainnya. Bakteri tersebut dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, serta beberapa kasus meningitis dan septikemia dilaporkan. Aminoglikosida seringkali digunakan untuk pengobatan infeksi Enterobacter (Kumar 2012).

9.5.5 Klebsiella

Anggota Genus Klebsiella merupakan bakteri Gram negatif, tidak berspora, berbentuk basil, nonmotil, memiliki tekstur koloni yang berlendir dan berwarna merah muda pada medium MacConkey's agar, dan secara umum memiliki kapsul. Genus tersebut dapat ditemukan di saluran usus manusia dan hewan atau hidup di tanah, air, dan tanaman. Anggota genus tersebut dapat memfermentasi gula (glukosa, laktosa, sukrosa, mannitol) dengan memproduksi asam dan gas. Bakteri tersebut bersifat urease positif, indol negatif, MR negatif, VP positif, dan sitrat positif (IMViC - - ++). Reaksi biokimia yang dapat membedakan spesies Klebsiella dapat dilihat pada Tabel 9.3

Tabel 9.3: Reaksi Biokimia yang dapat membedakan Spesies Klebsiella

Pengujian	<i>K. pneumoniae</i> subspecies				<i>K. oxytoca</i>
	<i>aerogens</i>	<i>pneumoniae</i>	<i>ozaenae</i>	<i>rhinoscleromatis</i>	
Gas dari glukosa	+	+	v	-	+
Asam dari laktosa	+	+	v	-	+
Urease	+	+	v	-	+

Sitrat	+	+	v	-	+
Malonat	+	+	-	+	+
MR	-	+	+	+	v
VP	+	-	-	-	v
Lysine decarboxylase	+	+	v	-	+
KCN	+	+	+	±	+

Klasifikasi Genus *Klebsiella* telah mengalami berbagai modifikasi. Berdasarkan studi DNA re-association, spesies yang sebelumnya dinamai *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis* dan *K. aerogenes* merupakan satu spesies. Nama *K. pneumoniae* digunakan untuk spesies secara keseluruhan. Namun demikian, *K. pneumoniae* kemudian dibagi menjadi 4 subspecies, yaitu *K. pneumoniae* subsp. *aerogenes*, *K. pneumoniae* subsp. *ozaeanae*, *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, dan *K. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*. Strain penghasil indol yang menyerupai *K. pneumoniae* subsp. *aerogenes* secara biokimiawi diklasifikasikan dalam spesies yang terpisah, yaitu *K. oxytoca*.

Tribe *Klebsiellae* dapat tumbuh pada medium pertumbuhan laboratorium di suhu 12-43 oC (optimal, 37 oC) dalam waktu 18-24 jam. Pada medium MacConkey agar, ukuran koloni besar, berwarna merah, dan bertekstur lendir. Sifat koloni yang berlendir disebabkan oleh struktur kapsul yang dimiliki oleh mikroorganisme tersebut. Bahan kapsuler diproduksi dalam jumlah besar pada medium kaya karbohidrat. Namun demikian, beberapa strain dari tribe tersebut tidak berlendir (Kumar 2012).

Klebsiella pneumoniae dapat menyebabkan pneumonia, infeksi nosokomial, infeksi saluran kemih, infeksi luka, bakteremia dan meningitis, serta sedikit kasus diare dilaporkan. Sebagian besar strain *K. pneumoniae* resisten terhadap antibiotik, sehingga menimbulkan masalah global pada bidang klinis. Beberapa strain *K. pneumoniae* penyebab diare terbukti menghasilkan enterotoksin yang mirip dengan toksin *E. coli* yang tahan panas. Produksi toksin tersebut ditentukan dengan keberadaan plasmid. Selain itu, sebagian besar strain *K. pneumoniae* membawa berbagai plasmid yang memiliki sifat resisten terhadap beberapa obat (multiple drug resistance), seperti resisten terhadap ampisillin, amoxicillin, dan carbapenem (Kumar 2012).

9.5.6 Serratia

Anggota dari Genus *Serratia* merupakan bakteri basil, Gram negatif, menghasilkan pigmen prodigiosin yang berwarna merah muda, merah, atau magenta dan pigmen tersebut tidak dapat berdifusi. *Serratia* merupakan bakteri saprofit yang dapat ditemukan di air, tanah dan makanan. *Serratia marcescens* merupakan spesies yang secara umum ditemukan pada spesimen klinis. Selain itu, *S. liquefaciens* dan *S. odorifera* juga dapat ditemukan pada spesimen klinis. *Serratia* dilaporkan menyebabkan infeksi saluran kemih dan saluran pernapasan, meningitis, infeksi luka, septikemia, dan endokarditis. Strain *Serratia* klinis dari rumah sakit secara umum dilaporkan bersifat multiple drug resistance (Kumar 2012).

9.6 Hubungan genetik

Hubungan genetik antara bakteri enterik terjadi dengan transfer gen melalui peristiwa konjugasi dan transduksi. Kelompok bakteri tersebut dapat memperoleh plasmid melalui konjugasi dari donor (*E. coli*) dan mempertahankannya sebagai elemen ekstrakromosom. Plasmid yang mengandung F-lac dan faktor-R (resistensi obat) dapat ditransfer antar anggota kelompok bakteri enterik (Patel et al. 2014).

9.7 Coliform

Coliform merupakan kelompok nontaksa dari Family Enterobacteriaceae yang merupakan 10% mikroflora penghuni usus manusia dan hewan. Contoh coliform yang umum ditemukan adalah *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, dan *Escherichia*. Bakteri coliform tersebut berperan sebagai indikator kualitas sanitasi makanan, sehingga keberadaannya di sampel makanan dimanfaatkan dalam bidang mikrobiologi. Bakteri coliform bersifat anaerob fakultatif, Gram negatif, tidak membentuk spora, nonmotil dan motil, berbentuk batang, memfermentasi laktosa dengan pembentukan asam dan gas ketika diinkubasi pada suhu 35-37 °C dalam waktu 48 jam (Patel et al. 2014).

Bakteri coliform dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu kelompok fecal coliform (coliform tinja) dan non fecal coliform. Fecal coliform merupakan irisan dari total coliform yang tumbuh dan memfermentasi laktosa pada suhu tinggi, sehingga fecal coliform juga disebut sebagai coliform termotoleran. Kelompok non fecal coliform adalah *Citobacter*, *Enterobacter* dan *Klebsiella*, sedangkan kelompok fecal coliform adalah *Escherichia coli* (Khan & Gupta 2020).

Escherichia coli merupakan mikroorganisme indikator karena bakteri tersebut hidup secara kosmopolit, dapat ditemukan pada tinja (fecal) dan lingkungan non fecal seperti tanah dan perairan. Sifat kosmopolit tersebut tidak dimiliki oleh koliform lainnya dan *E. coli* memenuhi syarat organisme indikator. Syarat suatu organisme dapat dijadikan sebagai indikator, yaitu organisme tersebut harus ada bila terdapat strain patogen, jumlahnya berkorelasi dengan kadar polusi, jumlahnya harus lebih tinggi dibandingkan organisme patogen, tidak boleh tumbuh di air, memiliki waktu bertahan hidup yang lebih besar atau sama dengan organisme patogen, tidak dapat bereproduksi di air, mudah dideteksi dan diidentifikasi secara cepat dan spesifik di laboratorium, dan organisme tersebut tidak berbahaya bagi manusia maupun hewan (Khan & Gupta 2020). Keberadaan *Escherichia coli* pada air minum umumnya dapat mengindikasikan kontaminasi tinja, yang berarti banyaknya patogen yang ada (Patel et al. 2014).

Kontaminasi tinja pada sumber air dapat diuji dengan mengobservasi mikroorganisme indikator. Pengujian dengan metode most probable number (MPN) menggunakan tabung fermentasi Durham dengan seri berkelipatan dapat dilakukan untuk mendeteksi koliform. Perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung yang positif, yaitu tabung yang mengalami perubahan warna atau terbentuknya gelembung gas pada dasar tabung Durham. Pemeriksaan tersebut dibagi menjadi tiga bagian, yaitu uji penduga (presumptive), uji penguat (confirmed) dan uji pelengkap (completed). Hasil perhitungan dicari nilai MPNnya pada tabel nilai MPN.

Metode substrat kromogenik dan fluorogenik memiliki prinsip mendeteksi enzim spesifik yang dihasilkan oleh bakteri koliform. Enzim spesifik tersebut akan menghidrolisis substrat dan melepaskan senyawa yang bersifat kromogen atau fluorogen. Kromogen merupakan komponen pembawa warna, sedangkan fluorogen merupakan komponen berpendar (berfluoresensi). Contoh substrat kromogenik yang dapat digunakan untuk mendeteksi bakteri coliform adalah *o*-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (ONPG) dan 5-bromo-4-chloro-3-

indolyl- β -D-galactopyranoside (XGAL). Contoh substrat fluorogenik yang dapat digunakan untuk mendeteksi *E. coli* adalah 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG).

9.8 Penyakit yang Ditimbulkan

Enterobacteriaceae tersebar di seluruh dunia. Kelompok tersebut dapat ditemukan di tanah, buah-buahan, daging, telur, sayuran, biji-bijian, tanaman berbunga dan pohon, dan pada hewan dari serangga hingga manusia. Patogenisitas pada manusia, hewan, dan kepentingan ekonomi, waktu generasi yang cepat, kemampuan untuk tumbuh pada medium artifisial laboratorium, dan penggunaan dalam studi manipulasi genetik menjadikan kelompok bakteri enterik tersebut sebagai objek kajian yang komprehensif di laboratorium.

Sebagian spesies dari kelompok Enterobacteriaceae berperan penting pada penurunan ekonomi global. Genus *Erwinia* dan *Pectobacterium* menyebabkan penyakit hawar (blight), layu (wilt) dan soft-rod pada jagung, kentang, apel, tebu, nanas, dan tanaman lainnya (Toth 2022). Industri ikan komersial juga terkena dampak penyakit yang disebabkan oleh *Yersinia ruckeri* dan spesies dari *Edwardsiella*. Salmonellosis pada unggas dan telur juga merupakan masalah global untuk peternak unggas dan masalah kesehatan manusia karena unggas yang menderita salmonellosis dapat menjadi vektor pembawa penyakit pada manusia. Salmonellosis dapat terjadi tidak hanya pada manusia, tetapi juga pada babi, sapi, kuda, anjing, dan kucing. Kelahiran mati dan kerusakan bulu pada domba secara umum disebabkan oleh *Salmonella*. Strain-strain enterotoksigenik dari *Escherichia coli* bertanggung jawab besar terhadap penyakit diare pada domba, babi, dan anak sapi. *Klebsiellae* dan *Citobacter freundii* merupakan bakteri enterik penyebab mastitis sapi. Selain itu, infeksi menular seksual pada rahim kuda disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae*; infeksi pada ular, kura-kura, dan kadal yang disebabkan oleh *Salmonella*; infeksi diare dan septikemia pada kelinci dan hewan pengerat yang disebabkan oleh *Yersinia*, dan shigellosis pada monyet (Brenner & Farmer III 2015).

Salmonella serotipe Typhi (*Salmonella typhi*) menyebabkan demam tifoid (Carey et al. 2022) dan *Yersinia pestis* menyebabkan penyakit pes dan pneumonia. Anggota Enterobacteriaceae lainnya juga banyak yang bersifat

patogen bagi manusia, seperti menyebabkan penyakit diare yang disebabkan oleh makanan atau air yang terkontaminasi; gangguan pernapasan, infeksi pada lesi, infeksi saluran kemih, dan meningitis. Agen penyebab penyakit-penyakit tersebut dapat dikelompokkan menjadi spesies yang secara normal bersifat patogen, seperti *Salmonella*, dan *Shigella*, *K. pneumoniae*, *Y. pestis*, sebagian serotipe *E. coli*, dan *Y. enterocolitica*; dan spesies yang menjadi patogen pada keadaan tertentu (patogen oportunistik).

Salmonellae, *E. coli*, *shigellae*, dan *Yersinia enterocolitica* dikenal sebagai penyebab wabah penyakit yang ditularkan melalui makanan. Penelitian mengungkapkan bahwa *E. coli* strain O157: H7, *Salmonella* serotipe Typhimurium tipe fage 104 (resisten terhadap lebih dari 5 senyawa antimikroba), dan *Salmonella* serotipe Enteritidis tipe fage 4, merupakan patogen pada makanan. *Salmonella* serotipe Typhimurium dan Enteritidis merupakan dua agen utama penyebab salmonellosis pada manusia di Amerika Serikat dan Inggris. Wabah penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* strain O157:H7 telah dilaporkan terjadi di Amerika Serikat, Eropa, Asia, dan Afrika. Strain *E. coli* tersebut dilaporkan sebagai penyebab utama sindrom uremik hemolitik, penyebab utama gagal ginjal akut pada anak-anak di Amerika. Enterobacteriaceae juga merupakan penyebab utama wabah penyakit yang ditularkan melalui air (Brenner & Farmer III 2015).

Bab 10

Bakteri Kokus

10.1 Morfologi Mikroskopik

Morfologi Mikroskopik merupakan karakteristik bakteri yang dilihat melalui pengamatan di bawah mikroskop. Bentuk bakteri sangat bervariasi, tetapi secara umum ada 3 tipe yaitu ; Kokus, batang dan lengkung (spiral). Bentuk bulat atau kokus dapat dibedakan menjadi:

1. Mikrokokus: Berbentuk bulat, susunan satu-satu. Contoh Monokokus Gonorrhoeae
2. Diplokokus: Berbentuk bulat, bergandengan dua – dua. Contoh: Diplococcus: Diplokokus Pneumonia
3. Stafilokokus: berbentuk bulat, tersusun seperti untaian buah anggur. Contoh: Stafilokokus aureus dan Stafilokokus epidermidis.
4. Streptokokus: berbentuk bulat, bergandengan seperti rantai, sebagai hasil pembelahan sel kesatu arah atau dua arah dalam satu garis. Contoh: Streptokokus faecalis dan Streptokokus lactis.
5. Sarkina: berbentuk bulat, terdiri dari delapan (8) sel yang tersusun dalam bentuk kubus, sebagai hasil pembelahan selketiga arah. Contoh: Tiosarkina rosea.

6. Tetrakokus atau gaffiyya: berbentuk bulat, tersusun dari empat (4) sel berbentuk bujur sangkar, sebagai hasil pembelahan sel kedua arah.
Contoh: Pediokokus sp.



Gambar 10.1: Macam-macam bentuk Monokokus, Diplokokus, Stafilokokus, Streptokokus, sarkina, dan Tetrakokus.

10.2 Bakteri Kokus Gram Negatif

Sebenarnya Bakteri dalam kelompok ini berbentuk batang, akan tetapi beberapa bentuknya sangat pendek sehingga hampir berbentuk bola (kokobasil). Dua dari empat jenis yang termasuk dalam grup ini ditemukan pada makanan, tetapi tidak menyebabkan perubahan cita rasa, tekstur atau basa, misalnya *Moraxella* dan *Acinobacter*.

10.2.1 *Moraxella*

Moraxella adalah genus yang mencakup spesies bakteri yang termasuk dalam mikrobiota normal nasofaring dan pada tingkat lebih rendah di saluran genital. Terkadang anggotanya bertindak sebagai patogen oportunistik, karena beberapa spesiesnya telah diisolasi sebagai agen etiologi infeksi nosokomial, luka yang terinfeksi, Infeksi sitemik, pneumonia, dan lain-lain. Spesies utama dalam genus ini adalah *Moraxella catarrhalis*, di kenal sebagai *Branhamella catarrhalis*. Spesies utama dalam genus ini adalah *Moraxella catarrhalis*, yang juga dikenal sebagai *Branhamella catarrhalis*. bakteri ini sebagai patogen

terpenting Ketiga di saluran pernapasan, setelah *Streptokokus pneumoniae* dan *Haemofilus Influeza*. Semua spesies genus *Moraxella* bersifat aerobik, tidak bergerak, memiliki fimbriae, tidak menghasilkan pigmen, atau hemolisis darah.

Moraxella adalah oksidase dan katalase positif, ter penting untuk membedakan genus *Moraxella* dari genus lain yang sangat mirip secara morfologis. Misalnya oksidase membantu menyingkirkan genus *Acinobacter* dan katalase mengecualikan genus *Kingella*. Genus lain yang dapat membingungkan mereka terutama spesies

Genus lain yang dapat membingungkan mereka, terutama spesies *M. catarrhalis*, adalah dengan *Neisseria*, baik untuk morfologinya maupun uji oksidase.

Genus *Moraxella* pada pewarnaan Gram dapat dilihat sebagai diplobasil Gram negative, kokobasil atau diplokoki, tergantung pada pasangannya.

Dalam kasus tertentu *Moraxella catarrhalis*, itu adalah satu-satunya spesies yang memiliki morfologi diplokoki gram negative. Secara mikroskopis setelah 24 jam inkubasi pada agar darah, diamati koloni kecil-kecil dengan diameter 0,5 mm yang berwarna abu-abu. Sebagian besar galur dari genus *Moraxella* tumbuh dengan susah payah dan lambat pada agar (MacConkey_ dengan koloni) pucat) yang tidak memfermentasikan laktosa, sementara yang lain tidak tumbuh seperti *M. lacunata* dan *M. nonliquefaciens*.

10.2.2 *Acinobacter*

Acinobacter adalah salah satu bakteri aerob yang paling terkenal dan terutama dikenal sebagai kuman rumah sakit yang multi resisten. Infeksi bisa berakibat fatal bagi pasien yang kekurangan kekebalan.

Bakteri dari genus *Acinobacter* juga termasuk dalam gram proteobacteria. Mereka gram negative dan dianggap sebagai salah satu jenis bakteri yang paling umum.

Bakteri dari genus *Acinobacter* juga termasuk dalam gram proteobacteria. Bakteri gram negatif dan dianggap sebagai salah satu jenis bakteri yang paling umum. Dalam kebanyakan kasus, bakteri bersifat multi resisten dan karenanya dapat menyebabkan penyakit serius.

Acinobacter baumannii dapat menyebabkan infeksi luka yang serius dan pneumonia pada orang yang mengalami gangguan kekebalan tubuh.

Komplikasi paling serius dari fenomena ini adalah sepsis. Sepsis adalah reaksi inflamasi dari seluruh organisme, yang juga dikenal sebagai keracunan darah dan bisa berakibat fatal. Jenis Acinetobakter penyebab meningitis lainnya, terutama *lwoffii*, *junii*, *haemolyticus* dan *jhonsonii*. Dalam konteks ini, paotgen menyebar ke otak melalui aliran darah.

10.3 Bakteri Kokus Gram Positif

Jenis bakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah famili: Micrococaceae dan Streptococaceae. Famili Streptococaceae bersifat aerobik dan katalase positif, sedangkan famili streptococcaceae bersifat fermentatif dan tidak membutuhkan oksigen, meskipun tidak akan mati dengan adanya oksigen. Anggota dari famili Streptococcaceae bersifat katalase negative, berbentuk kokus dalam rangkaian membentuk rantai atau tetrad.

10.3.1 Mikrokokus

Mikrokokus merupakan bakteri berbentuk bulat yang hidup secara bergerombol tidak teratur, atau membentuk paket atau tetrad. Bakteri ini bersifat Gram Positif, aerobik, dan katalase positif. Kebanyakan spesies mikrokokus membentuk pigmen berwarna kuning (Contoh *M. flavus*), orange, merah, atau merah muda (Contoh: *M. roseus*). Bakteri ini mempunyai suhu pertumbuhan optimum berkisar 25 – 30°C, masih dapat tumbuh pada suhu 10°C, tetapi tidak ada suhu 46°C.

10.3.2 Stafilokokus

Stafilokokus merupakan bakteri berbentuk bola, yang terdapat dalam bentuk Tunggal, berpasangan, tetrad, atau berkelompok seperti buah anggur. Nama bakteri ini berasal dari Bahasa latin *staphyle* yang berarti anggur. Beberapa sepsis memproduksi pigmen berwarna kuning, sampai orange, misalnya Stafilokokus aureus. Bakteri ini membutuhkan nitrogen organik (asam amino) untuk pertumbuhannya, dan bersifat anaerobik fakultatif. Kebanyakan galur Stafilokokus aureus bersifat patogen dan memproduksi enterotoksin yang tahan panas. Beberapa galur, terutama yang bersifat patogenik, memproduksi koagulasi (mengumpul, memproduksi koagulasi (mengumpulkan plasma), bersifat proteolitik, lipolitik, dan betahemostatik menggumpalkan plasma),

bersifat proteolitik, lipolitik, dan betahemolitik. Spasies lainnya yaitu ; S epidermidis, biasanya tidak bersifat pathogen, dan merupakan flora normal yang terdapat pada kulit dan tangan dan hidung.

1. Stafilokokus aureus

Stafilokokus aureus adalah satu jenis bakteri stafilokokus. Jika dilihat di bawah mikroskop bakteri Stafilokokus akan tampak seperti sekelompok anggur. Di antara lebih dari 30 jenis bakteri stafilokokus , stafilokokus aureus merupakan jenis yang paling sering ditemukan dan menyebabkan penyakit. Berikut adalah beberapa penyakit yang dapat Di antara lebih dari 30 jenis bakteri Staphylococcus, Staphylococcus aureus merupakan jenis yang paling sering ditemukan dan menyebabkan penyakit . Berikut ini adalah beberapa penyakit yang dapat disebabkan oleh infeksi stafilokokus aureus:

a. Infeksi Kulit

Siapa pun bisa mengalami infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri stafilokokus aureus. Infeksi bakteri stafilokokus aureus pada kulit bisa menyebabkan bisul, impetigo, selulitis, dan sindrom kulit melepuh staphylococcal (SSSS). Biasanya infeksi kulit ini ditandai dengan kulit kemerahan, bengkak, nyeri, hingga luka bernanah.

b. Penyakit bakterimia (Sepsis)

Bakteri stafilokokus aureus bisa juga menyebabkan bakterimia. Kondisi ini terjadi saat infeksi sudah menyebar melalui pembuluh darah, sehingga bisa meluas ke berbagai organ tubuh. Selain stafilokokus, jenis bakteri lain yang dapat menyebabkan bakterimia adalah streptokokus pneumonia dan salmonella. Kondisi ini dapat menimbulkan gejala berupa demam, penurunan tekanan darah, dan napas yang menjadi cepat.

c. Osteomielitis

Osteomielitis adalah infeksi pada tulang. Infeksi ini bisa disebabkan oleh penyebaran bakteri stafilokokus aureus yang awalnya menginfeksi kulit, otot atau tendon, lalu menyebar ke tulang. Selain dari kulit, osteomielitis juga bisa terjadi karena

komplikasi pada saat operasi tulang. Beberapa kondisi yang meningkatkan risiko terjadinya osteomielitis adalah diabetes, cuci darah, gangguan peredaran darah, penggunaan narkoba suntik, dan gangguan system kekebalan tubuh. Osteomielitis ditandai dengan munculnya rasa nyeri pada tulang, pembengkakan, luka terbuka yang bernanah, demam dan menggigil serta gelisah.

d. Pneumonia

Penyakit yang juga dikenal sebagai paru-paru basah ini terjadi ketika infeksi menyebabkan peradangan pada kantong udara (alveolus). Akibatnya, alveolus dipenuhi cairan atau nanah, sehingga membuat penderita sulit bernapas. Infeksi terjadi ketika menghirup udara atau percikan air liur saat penderita pneumonia bersin atau batuk. Percikan inilah yang membawa bakteri stafilokokus aureus penyebab pneumonia. Penularan juga dapat terjadi ketika menyentuh benda yang terkontaminasi percikan liur, lalu menyentuh hidung atau mulut. Gejala pneumonia antara lain berupa batuk berdahak, sesak napas, demam, menggigil, berkeringat, dan nyeri dada ketika menarik napas maupun batuk.

e. Endokarditis

Endokarditis adalah peradangan pada endocardium, yaitu lapisan jantung bagian dalam. Penyakit ini umumnya terjadi pada orang yang menderita kelainan katup jantung, atau menderita kardiomiopati. Endokarditis terjadi ketika kuman masuk ke aliran darah yang menuju ke jantung, kemudian menempel dan menginfeksi katup jantung yang mengalami gangguan. Selain itu, kuman juga bisa menempel di jaringan jantung yang rusak. Gejala endokarditis adapat berupa demam, menggigil, lemas, nyeri otot dan sendi, edema, serta sesak napas.

f. Toksik Shock Syndrome

Toksik shock syndrome disebabkan oleh infeksi bakteri stafilokokus aureus yang masuk ke aliran darah dan kemudian memproduksi racun. Kondisi ini adalah keracunan serius yang

bisa mengancam nyawa. Gejala Toksik shock syndrome antara lain; demam tinggi mendadak, penurunan tekanan darah, sakit kepala, mual, muntah atau diare, hingga kejang. Pengobatan utama infeksi bakteri stafilokokus aureus adalah dengan menggunakan antibiotik. Salah satu cara untuk mencegah infeksi ini adalah dengan rajin mencuci tangan, tidak berbagi penggunaan barang pribadi dengan orang lain, serta melakukan pemeriksaan ke dokter jika memiliki luka pada kulit, dan kondisi penderita yang berisiko mengalami infeksi.

2. Stafilokokus epidermidis

Stafilokokus epidermidis merupakan Sebagian besar flora normal pada kulit manusia, saluran pencernaan. Bakteri ini juga dapat ditemukan di udara dan lingkungan sekitar kita. Kejadian infeksi sering berkaitan dengan alat implant, seperti protesis sendi, shunt, kateter intavaskular, terutama pada pasien yang sangat muda, tua dan luhul imun (imunokompromised).

Stafilokokus epidermidis memanfaatkan glukosa, fruktosa, sukrosa, dan laktosa untuk membentuk produk asam aerobik, tidak memfermentasikan mannitol. Bakteri ini sensitif terhadap novobiosin. Tes ini membedakannya dengan stafilokokus saprofitikus, yang juga koagulase negative, tetapi resisten novobiosin. Bakteri ini juga memproduksi toksin, dan lender yang memudahkannya untuk menempel di mana – mana, termasuk permukaan alat – alat yang terbuat dari plastic atau kaca. Lender tersebut membuat *S. epidermidis* lebih tahan terhadap fagositosis, dan beberapa antibiotic tertentu. Infeksi *S. epidermidis* terlokalisasi tampak seperti jerawat, infeksi folikel rambut atau abses.

10.3.3 Streptokokus

Streptokokus merupakan bakteri berbentuk bola yang hidup secara berpasangan, atau membentuk rantai pendek dan Panjang, yang tergantung dari spesies dan kondisi pertumbuhannya. Bakteri ini bersifat homofermentative, dan beberapa spesies memproduksi asam laktat secara cepat pada kondisi anaerobic. Streptokokus dapat dibedakan berdasarkan bidang

makanan, berdasarkan reaksi serologi menjadi empat (4) grup berdasarkan sifat fisiologi dan hemolitiknya, yaitu: grup piogenik, grup viridian, grup laktat, dan grup enterokokus.

Namun demikian, klasifikasi streptokokus dikaitkan dengan bidang kedokteran maka dibedakan menjadi golongan A= Streptokokus pyogenes (kelompok besar pathogen pada manusia yang berhubungan dengan invasi local atau sistemik, dan kelainan pasca streptokokus disebabkan reaksi – reaksi imunologi). Golongan B= Streptokokus algalctie (anggota flora normal dari saluran kelamin Wanita dan merupakan penyebab penting pada sepsis danmeningitis neonatal). Golongan C dan G = kadang-kadang terdapat pada faring (dpat menyebabkan sinusitis, bakterimia, dan endocarditis), Golongan D = termasuk enterokokus, misalnya Streptokokus faecalis, streptokokus faecium; dan non enterokokus, misalnya Streptokokus bovis, Streptokokus equines (merupakan flora normal usus dan ditemukan pada saluran air kemih atau infeksi kardiovaskuler atau pada meningitis). Golongan E, F, H, K, dan U (jarang menimbulkan penyakit pada manusia).

10.3.4 Leuconostoc

Leuconostoc merupakan jenis bakteri yang bersifat heterofementatif, yaitu memfermentasi gula menjadi asam laktat dan CO₂ dan etanol atau asam asetat.

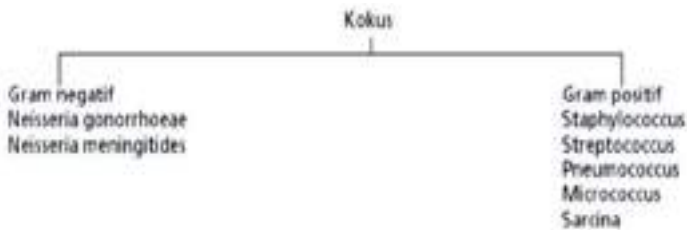
10.4 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri adalah satu tugas enzim yang dilakukan di laboratorium. Perincian bakteri yang diisolasi dari pasien, makanan dan minuman, harus dilaksanakan dengan cepat dan tepat sehingga dapat diketahui nama bakteri dan menentukan pilihan pengobatan dengan tepat. Bakteri yang akan diisolasi, dapat berupa biakan murni atau popilasi campuran. Bila biakan bakteri yang akan diidentifikasi tercemar, maka perlu dilakukan pemurnian terlebih dahulu.

Lazimna, pemurnian dilakukan dengan cara menggores suspense bakteri yang akan diisolasi pada agar lempengan. Setelah diperoleh koloni terpisah, kemudian dibuat pewarna gram dari beberapa koloni untuk melihat kemurnian biakan. Setelah diperoleh biakan murni dapat dilakukan serangkaian pemeriksaan dan uji untuk memperoleh ciri morfologi dan biokimia dari isolate. Pemeriksaan yang dilakukan dengan tujuan untuk

memperoleh data tentang morfologi bakteri. Setiap uji yang dilakukan pada sela tau produksi sel bakteri, harus menggunakan control untuk mengetahui apakah media serta reagen yang digunakan memenuhi persyaratan. Selain itu, control digunakan untuk melihat bahwa Teknik yang digunakan benar dan tepat. Uji yang digunakan dalam mengidentifikasi bakteri, tidaklah sama untuk semua kelompok. Sebagai contoh untuk proses identifikasi kelompok bakteri Enterobakteria, salah satu Langkah pengujian adalah menggunakan kemampuan bakteri tersebut memfermentasi laktosa. Namun tahap pengujian ini tidak dapat dipakai untuk proses identidikasi kelompok stafilokokus dan streptokokus. Untuk kedua bakteri tersebut, digunakan uji katalase.

Rujukan yang dipakai dalam identifikasi bakteri adalah Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Buku ini mendasarkan pada morfologi, sifat faal, dan sifat biokimiawi bakteri. Tahap awal dalam identifikasi bakteri adalah dilakukan pewarnaan gram. Hasil yang diperoleh dalam pewarnaan gram adalah: bakteri garm positif, dan bakteri gram negative. Selain informasi tentang gram juga di ketahui bentuk sel bakteri dari hasil pewarnaan gram. Skema kerja dalam proses identifikasi bakteri, ditunjukkan sebagai berikut:



Gambar 10.2: Identifikasi Bakteri

Bab 11

Bakteri Spiral

11.1 Pendahuluan

Sel bakteri menunjukkan keragaman yang signifikan dalam hal morfologi seluler, dan bentuknya dapat mengalami variasi selama siklus hidupnya. Banyak morfologi seluler yang ditunjukkan oleh bakteri dapat memainkan peran penting dalam fungsi biologisnya. Salah satu jalan yang muncul untuk menyelidiki pentingnya fungsi seluler di beberapa spesies bakteri terletak pada eksplorasi program genetik yang terkait dengan variasi morfologi pada spesies ini.

Dinding sel merupakan komponen penting dalam penentuan bentuk sel bakteri. Namun demikian, variasi sifat kimia pada dinding sel merupakan kendala yang signifikan dalam hal ini, karena perbedaan tersebut berpotensi mengganggu bentuk sel. Temuan terbaru mengungkapkan bahwa banyak jenis bakteri berbahaya didorong oleh tekanan selektif. Perbedaan bentuk berkontribusi pada kemampuan organisme untuk menempel secara efektif pada permukaan organik dan anorganik. Hal tersebut memungkinkan kelangsungan hidup bakteri dalam situasi yang menantang atau selama periode sumber daya yang terbatas. Selain itu, bentuk tubuh bakteri juga memungkinkannya untuk menghindari sistem komplemen manusia, memfasilitasi pelariannya dari respons imun. Selain itu, bentuk organisme memfasilitasi distribusi yang efisien melalui pelindung mukus dan jaringan,

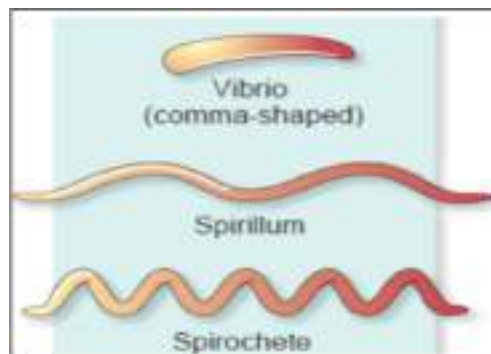
meningkatkan kemampuannya untuk mengakses dan memperoleh nutrisi (Farnia et al., 2018).

11.2 Bakteri Spiral

Bakteri spiral merupakan kategori bentuk tubuh bakteri terbanyak ke-3, setelah bakteri bentuk batang (basil) dan bakteri bentuk bulat (kokus). Bakteri spiral dapat dikelompokkan menjadi vibrio, spirila, dan spirochaeta (Gambar 12.1) (silinder yang terpilih secara heliks). Variasi bentuk spiral tergantung dari jumlah gelung per sel serta molitilitas, densitas dan tingkat elastisitas suatu sel. Bakteri Spirochaeta memiliki keunikan yaitu kelenturan tubuh dan mampu mengembang panjang serta mengerut seperti karet gelang (Farnia et al., 2018).

Bakteri dengan bentuk spiral tidak saling menempel atau membentuk koloni karena dinding selnya tidak bersentuhan. Spiral bakteri biasanya ada secara tunggal. Panjang sel dan kekakuan dinding sel bervariasi antar spesies (Boleng, 2015).

Bakteri spiral pertama kali ditemukan oleh Rappin pada lapisan mukosa lambung pada tahun 1881. Bakteri spiral tersebut dinamakan *Spirillum rappini*. Tidak lama setelah itu, pada tahun 1906, Krienitz mendeskripsikan 3 jenis bakteri spiral pada ulser lambung seorang pasien yang memiliki karsinoma lambung. Bakteri spiral pertama yang dideskripsikan pada tahun 1983 ialah *Campylobacter pylori* (McNulty et al., 1989).



Gambar 11.1: Bentuk Bakteri Spiral yaitu Vibrio, Spirillum, Spirochaeta (Pommerville, 2011).

11.3 Bakteri Genus Vibrio

Bakteri bergenus *Vibrio* merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang melengkung. Hidupnya bersifat mesofilik, anaerob fakultatif, oksidase-positif (kecuali dua spesies). Banyak bakteri genus *Vibrio* bersifat patogen terhadap manusia dan terlibat dalam penyakit yang ditularkan melalui makanan. Selain *V. cholerae* dan *V. mimicus*, *Vibrio* spp. tidak tumbuh pada media yang tidak diberi tambahan natrium klorida, dan disebut sebagai halofilik (Martins et al., 2022).

Vibrio cholerae, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio vulnificus* merupakan bakteri genus *Vibrio* yang bersifat patogen terhadap manusia. Infeksi yang ditimbulkan ketiga spesies *Vibrio* tersebut dapat beragam mulai dari gangguan gastroenteritis ringan sampai kasus berat septisemia. Kondisi infeksi biasanya dikaitkan dengan konsumsi air dan makanan yang telah terkontaminasi, terutama makanan hasil laut yang dikonsumsi secara mentah (Martins et al., 2022).

Hasil uji kerentanan antimikroba menunjukkan adanya resistensi terhadap aminoglikosida, beta-laktam (termasuk karbapenem dan sefalosporin generasi ketiga), fluoroquinolon, sulfonamid, dan tetrasiklin. Terdapat empat isolat yang diidentifikasi sebagai pembuat beta-laktamase spektrum luas (ESBL), yang semuanya terbukti memiliki gen yang terkait dengan resistensi terhadap antibiotik beta-laktam dan logam berat (Canellas et al., 2021).



Gambar 11.2: Bakteri *Vibrio Parahaemolyticus*.

Vibrio cholerae disebar melalui air minum yang terkontaminasi, sedangkan spesies *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus* disebarkan melalui makanan

seafood. Gangguan kesehatan yang diakibatkan oleh bakteri bergenus *Vibrio* disebut vibriosis.

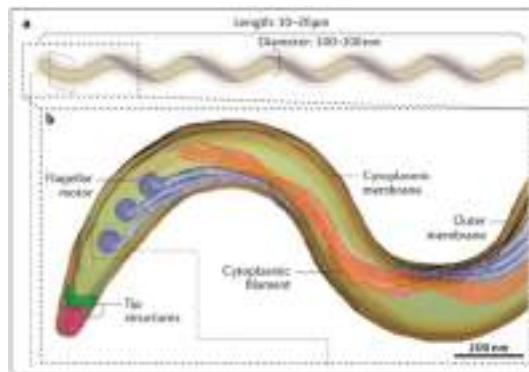
Kolera disebabkan oleh bakteri *Vibrio cholerae*. *Vibrio cholerae* pertama kali diisolasi pada akhir abad ke-19 oleh ahli fisika bernama Robert Koch dari feses pasien. Kolera bisa terjadi dikarenakan sanitasi yang kurang bersih, jumlah populasi penduduk yang tidak terkendali serta sumber-sumber air yang tidak diberi penanganan. Faktor virulensi utama kolera adalah toksin kolera, yang berperan penting dalam mendorong kolonisasi bakteri di dalam saluran usus. Durasi masa inkubasi kolera berkisar antara 18 jam hingga 5 hari. Gejalanya dapat dikategorikan menjadi dua tingkat keparahan: sedang, yang meliputi muntah, kram, dan diare cair, dan parah, yang ditandai dengan diare yang banyak. Pada kasus kolera yang sangat parah, individu mungkin mengalami keluarnya tinja dalam jumlah besar, mencapai hingga 1 liter per jam. Keluarnya cairan ini sering kali menyerupai air beras dan dapat menyebabkan dehidrasi serius. Ketika tingkat keparahan diare meningkat, individu mungkin mengalami penurunan berat badan yang signifikan, kejang otot, dan kondisi tidak sadarkan diri, yang seringkali menyebabkan kematian dalam banyak kasus (Martins et al., 2022).

Vibrio parahaemolyticus (Gambar 12.2) adalah agen etiologi utama yang bertanggung jawab atas terjadinya penyakit diare terkait dengan konsumsi makanan laut dalam skala global. Bakteri ini terutama menyebabkan diare ringan, disertai kram perut dan mual, pada individu yang terkena infeksi. Selain itu, keberadaan bakteri ini dapat menyebabkan berkembangnya infeksi luka. Durasi gejala setelah konsumsi makanan tercemar berkisar antara 4 hingga 96 jam, dengan resolusi rata-rata dalam 3 hingga 4 hari. Namun perlu diingat bahwa kondisi ini umumnya dapat hilang dengan sendirinya. Dalam kasus tertentu, infeksi ini dapat menyebabkan septikemia, suatu kondisi yang berpotensi mematikan, dan cenderung lebih umum terjadi pada mereka yang memiliki kondisi medis yang sudah ada sebelumnya. Strain patogen biasanya menunjukkan produksi hemolisin termotabil yang dikenal sebagai TDH, serta hemolisin yang berkerabat dekat dengan TDH yang disebut TRH. Strain ini telah dikaitkan dengan beberapa kejadian wabah, epidemi, dan pandemi (Martins et al., 2022).

Vibrio vulnificus tergolong patogen oportunistik. Infeksi yang disebabkan oleh mikroba ini bersifat parah, biasanya memerlukan rawat inap, dan dapat dikaitkan dengan konsumsi makanan laut yang terkontaminasi patogen dan kontak luka terbuka dengan air laut (Martins et al., 2022).

11.4 Tryponema pallidum

Treponema pallidum (Gambar 12.3) dikenal sebagai penyebab penyakit sifilis. Sifilis merupakan salah satu penyakit Infeksi Menular Seksual (IMS) yang juga dapat menular secara vertikal. Hal ini disebabkan oleh spirochaete *Treponema pallidum* subspesies *pallidum* (ordo Spirochaetales) (Gambar 12.2). Tiga organisme lain dalam genus ini merupakan penyebab nematosa trepo nonvenereal atau endemik. *T. pallidum* subspesies *pertenuis* merupakan penyebab frambusia (yaws), *T. pallidum* subspesies *endemicum* menyebabkan penyakit sifilis endemik (nonvenereal, bejel), dan *T. carateum* menyebabkan pinta. Patogen tersebut tidak dapat dibedakan secara morfologis maupun antigen. Namun, sifilis dapat dibedakan berdasarkan usia saat tertular, cara penularan utama, manifestasi klinis, kemampuan invasi ke sistem saraf pusat (SSP) dan plasenta, serta urutan genom (Peeling et al., 2017; Edmondson & Norris, 2021).



Gambar 11.3: Bentuk *Treponema pallidum* dengan membran Sitoplasma dan membran luar (Peeling et al., 2017)

Treponema pallidum merupakan patogen obligat manusia, artinya bergantung pada manusia untuk kelangsungan hidupnya. Ia juga dikenal karena kemampuannya menyerang jaringan inang dan menghindari sistem kekebalan. Manifestasi klinis infeksi *T. pallidum* merupakan akibat dari respon inflamasi lokal yang dipicu oleh replikasi spirochaeta di dalam jaringan tubuh. Individu yang terinfeksi umumnya mengalami perkembangan penyakit yang dapat dikategorikan ke dalam tahap utama, sekunder, laten, dan tersier, yang biasanya berlangsung setidaknya 10 tahun. Latensi dini umumnya

didefinisikan sebagai permulaan sekitar 1-2 tahun setelah paparan, menurut berbagai pedoman. Secara umum, istilah “sifilis dini” mencakup infeksi menular seksual, termasuk infeksi primer, sekunder, dan laten dini. Istilah ini umumnya digunakan secara bergantian dengan istilah "sifilis aktif", yang berarti sifilis menular. WHO mendefinisikan "sifilis dini" sebagai infeksi yang berlangsung kurang dari dua tahun. Namun, pedoman dari Amerika Serikat dan Eropa menetapkan bahwa istilah ini mengacu pada infeksi yang berlangsung kurang dari satu tahun. Variasi definisi dapat berdampak pada interpretasi temuan dan rekomendasi protokol terapi yang digunakan dalam situasi tertentu (Peeling et al., 2017).

Seperti semua spirochaetes, tubuh *Treponema pallidum* terdiri dari silinder protoplasma dan membran sitoplasma yang dibatasi oleh lapisan peptidoglikan tipis dan membran luar. Biasanya digambarkan berbentuk spiral, *T. pallidum* sebenarnya merupakan gelombang planar tipis yang mirip dengan *Borrelia burgdorferi* (penyebab penyakit Lyme borreliosis). Bakteri tersebut bereplikasi dengan lambat dan tidak tahan terhadap pengeringan, suhu tinggi, dan tekanan oksigen tinggi (Peeling et al., 2017).

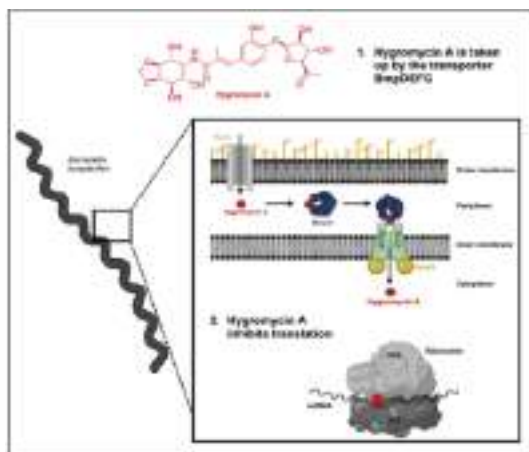
Pencarian antibiotik terhadap *T. pallidum* diakibatkan oleh sulitnya bakteri tersebut dikultivasi secara *in vitro*. *T. pallidum* hanya dapat hidup di kondisi yang mirip dengan lambung. Faktor penting dalam keberhasilan kultivasi *T. pallidum* secara *in vitro* (setelah penelitian bertahun-tahun) yaitu kondisi mikroaerobik (1.5% O₂ dan 5% CO₂) serta keberadaan sel mamalia (Edmondson & Norris, 2021).

11.5 *Borrelia Burgdorferi*

Borrelia burgdorferi dikenal sebagai bakteri bentuk spiral penyebab penyakit Lyme atau relapsing fever. Faktor yang memengaruhi kenaikan insiden penyakit lyme yaitu perluasan habitat vektor tick (vektor pembawa *B. burgdorferi*), interaksi atau transfer vektor pembawa dari hewan peliharaan ke tubuh manusia, aktivitas bakteri yang meningkat diakibatkan perubahan iklim (Leimer et al., 2021).

Ruam khas (disebut eritema migrans) yang dimulai di area inokulasi kutu, merupakan gejala penyakit akut Lyme. Kuman segera menyebar dari sana ke lokasi kulit lainnya, jantung, sistem saraf perifer dan pusat, serta meningitis,

mengakibatkan karditis, radikulitis, dan kelumpuhan saraf. Jika infeksi *B. burgdorferi* tidak diobati pada tahap awal infeksi, gejala lanjutnya dapat mencakup radang sendi dan gangguan syaraf (Leimer et al., 2021).



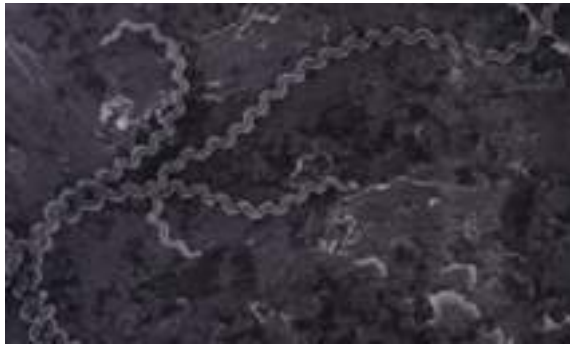
Gambar 11.4: Mekanisme antibiotik untuk penyakit Lyme (Leimer et al., 2021).

Antibiotik spektrum luas seperti doksisisiklin, amoksisilin, dan seftriakson digunakan untuk mengobati penyakit akut (Gambar 12.4). Penggunaan antibiotik dengan spektrum luas dapat memberikan efek buruk terhadap keseimbangan mikrobiota yang ada di saluran pencernaan serta dapat meningkatkan kemungkinan resistensi patogen terhadap antibiotik. Hal tersebut dapat merugikan penderita (Leimer et al., 2021).

Mikrobioma usus terganggu dan bakteri di luar target dipilih untuk resisten selama terapi kimia spektrum luas, yang merugikan pasien. Mikrobioma sangat penting dalam membantu menjaga kesehatan saluran pencernaan, menghindari kondisi autoimun, gangguan kardiovaskular maupun mental, juga dapat memengaruhi sistem kekebalan selama perkembangan (Leimer et al., 2021).

11.6 *Leptospira interrogans*

Leptospira interrogans termasuk bakteri yang masuk dalam penggolongan ordo Spirochaetales dalam famili Leptospiraceae. Bentuknya spiral yang disertai pilinan rapat, di mana ujung-ujungnya mirip kait (Gambar 12.5). Struktur tersebut mendukung gerakan bakteri yang berputar di sumbu ke arah depan, belakang, membelok, secara sangat aktif. Bakteri tersebut berukuran 0,1 x 0,6-20 μm . Bakteri *Leptospira* bersifat aerob obligat. Pertumbuhan optimal yaitu 28-30°C dan pH 7,2 - 8,0. Bakteri tersebut dapat tumbuh di media sederhana yang tinggi vitamin (Vit B2 dan B12), garam amonium, asam lemak rantai panjang. Dapat dilihat dengan pewarnaan karbolfuchsin. *Leptospira* sensitif terhadap asam, mampu bertahan hidup di air tawar sekitar 1 bulan, tapi akan cepat mati di air laut, selokan dan urin. Genus *Leptospira* dikelompokkan menjadi 2 serovarian yaitu *L. interrogans* dan *L. biflexa* yang bersifat saprofit (non-patogen) (Kementerian Kesehatan RI, 2014).



Gambar 11.5: *Leptospira interrogans* (Mohammed et al., 2011).

Bakteri *L. interrogans* ialah penyebab penyakit leptospirosis yang biasanya menyebar lewat urin tikus (tikus sebagai vektor atau pembawa bakteri tersebut). Gejala umum leptospirosis yaitu demam, sakit kepala, gagal ginjal, nyeri otot di area paha, betis. Penyebaran penyakit leptospirosis terjadi di area banjir di mana urin tikus mencemari genangan air. Selain tikus, hewan yang dapat menularkan penyakit ini antara lain anjing, kucing, sapi, kambing, domba, kuda, kelelawar, tupai, serta serangga (Kementerian Kesehatan RI, 2014).

11.7 *Helicobacter Pylori*

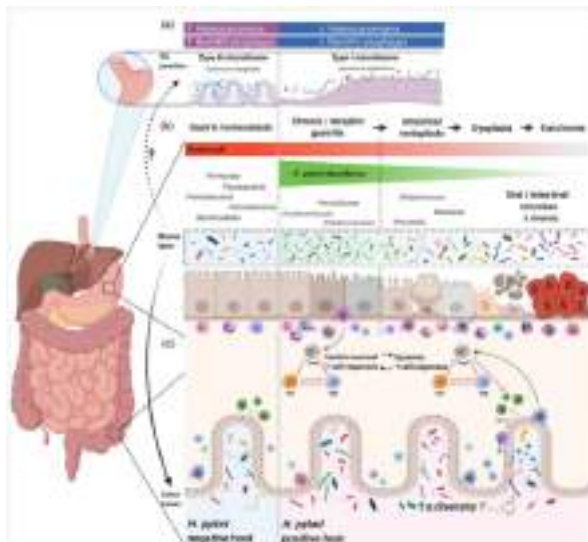
Helicobacter pylori merupakan bakteri Gram negatif berbentuk spiral dan bersifat mikro-aerofilik. Tebal tubuh 0,6 mm disertai 7 flagella. *Helicobacter pylori* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 35-37°C, dan memproduksi enzim katalase, cytochrom oxidase, urease, alkaline phosphatase, dan glutamyl transpeptidase (Warganegara & Tantri, 2016). Bakteri tersebut menetap di organ lambung tubuh manusia, sehingga menyebabkan infeksi pada hampir separuh populasi global. Enzim urease dan α -karbonat anhidrase digunakan untuk menghasilkan ion amonia dan bikarbonat (HCO_3^-) sebagai cara untuk melawan efek buruk dari pH rendah. Mikroorganisme tersebut menggunakan mekanisme penginderaan gradien pH untuk menemukan habitat pilihan mereka di dekat epitel inang, sehingga memodifikasi penghalang lendir dan membangun kepatuhan terhadap sel epitel. Molekul efektor bakteri memberikan pengaruh pada perilaku sel lambung, memfasilitasi pelepasan nutrisi dan kemokin, serta mengontrol sekresi asam (Sheh & Fox, 2013)

Seperti yang telah diketahui, saluran pencernaan memiliki ekosistem mikroflora. Bakteri berbentuk basil dan kokus banyak ditemukan di bagian lumen usus, tapi di bagian mukus banyak ditemukan bakteri berbentuk spiral dengan pergerakan motil yang tinggi. Bakteri spiral yang terbiasa dengan lendir di usus bagian bawah, bisa jadi memperoleh kemampuan untuk bertahan dalam kondisi asam untuk jangka waktu yang cukup untuk mencapai permukaan lambung dan kemudian melindungi dirinya dalam lingkungan lendir lambung yang tinggi kandungan bikarbonatnya. Bakteri tersebut harus memperoleh nutrisinya di dalam lingkungan lendir sambil meminimalkan perubahan yang dapat membahayakan kemampuan perindungannya. Dalam kasus setiap spesies hewan, penyerbu lendir primordial telah mengalami proses evolusi yang sedikit berbeda, namun semuanya telah mencapai kesuksesan dan biasanya hidup berdampingan dengan organisme inangnya dengan dampak yang minimal. *Helicobacter pylori* diduga merupakan bakteri yang telah beradaptasi dengan lingkungan mukosa lambung manusia. Namun demikian, mengkategorikan organisme ini sebagai "flora normal" merupakan sebuah tantangan karena hubungannya yang konsisten dengan kelainan histopatologis (Lee, 1991).

Seorang pengidap *H. pylori* (Gambar 12.6) memulai respons inflamasi akut sebagai respons terhadap infeksi *H. pylori*, yang ditandai dengan infiltrasi neutrofil dan sel mononuklear. Respon peradangan tersebut kemudian

berkembang menjadi maag kronis dan aktif. *Helicobacter pylori* menggunakan banyak mekanisme untuk bertahan melawan spesies oksigen dan nitrogen reaktif (RONS). Mekanisme ini melibatkan pemanfaatan enzim detoksifikasi, seperti katalase dan superoksida dismutase, serta kerja arginase, yang membatasi sintesis oksida nitrat oleh sel imunitas (Sheh and Fox, 2013).

Selain itu, perlu dicatat bahwa lipopolisakarida (LPS) dan flagelin yang diproduksi oleh *H. pylori* tidak menyebabkan reaksi inflamasi yang kuat. Akibatnya, hal ini menghambat pengembangan respons imun yang ditargetkan terhadap bakteri. Kurangnya efektivitas respon awal menyebabkan berkembangnya kondisi inflamasi yang persisten. Respon imun terhadap *H. pylori* sebagian besar melibatkan imunitas seluler, khususnya sel T, dibandingkan imunitas humoral yang dimediasi oleh sel B. Respon ini terdiri dari respons sel T proinflamasi dan regulasi (Sheh & Fox, 2013).



Gambar 11.6: Peranan *Helicobacter pylori* terhadap mikrobiota lambung. (Chen et al., 2021)

Secara umum, sel T helper 1 (TH1) dan TH17 melepaskan sitokin seperti interleukin-2 (IL-2), IL-17, IL-22, dan IFN- γ , yang meningkatkan sinyal proinflamasi dan memfasilitasi perekrutan neutrofil dan aktivasi makrofag. Sel TH1 dan TH17 mempunyai implikasi yang signifikan dalam regulasi infeksi *H. pylori*, serta dalam perkembangan imunopatologi yang terkait dengan

infeksi tersebut. *Sel Regulatory T* (TREG) memainkan peran penting dalam menjaga toleransi imunologis, yang memungkinkan kelangsungan hidup *H. pylori* dalam jangka panjang sekaligus meminimalkan efek merugikan dari reaksi sel T imunopatologis yang berlebihan pada penderita. Teori mekanisme terbaru menjelaskan bahwa *H. pylori* dapat mengatur respon sel T proinflamasi dan regulasi melalui pelepasan IL-1 β dan IL-18, yang dilanjutkan dengan aktivasi inflamasi (Sheh and Fox, 2013).

Upaya tuan rumah untuk memberantas *H. pylori* meningkatkan imunopatologi lambung (gastritis, kerusakan epitel seperti atrofi dan metaplasia usus), yang mengubah lambung kompartemen dan mikrobiotanya, dan selanjutnya dapat berkembang terhadap kanker lambung. Belum jelas ada tidaknya korelasi antara diversitas mikrobiota lambung dengan keprogresifan mukosa lambung sehat sampai kanker lambung. Penurunan sekresi asam lambung yang diakibatkan oleh infeksi *H. pylori* dapat mendukung kolonisasi bakteri lain dalam lambung. Sebagai contoh bakteri genus *Lactobacillus* ditemukan dalam jumlah koloni yang jauh lebih tinggi pada pasien kanker lambung dibandingkan orang sehat. Bakteri genus *Lactococcus* dan *Lactobacillus* telah diketahui dapat menghasilkan asam laktat dan secara teori dapat membantu proses progresifnya tumor di mana senyawa laktat dapat digunakan sebagai sumber energi bagi pertumbuhan tumor maupun proses angiogenesis. Karena perannya dalam kanker lambung, *Helicobacter pylori* adalah salah satu agen infeksi pertama yang dikenali oleh Badan Internasional untuk Penelitian Kanker (IARC) sebagai karsinogen kelas I (Stewart et al., 2020; Chen et al., 2021).

11.8 *Spirillum minus*

Spirillum minus adalah bakteri yang bercirikan morfologi heliks kompak, memperlihatkan struktur pendek dan kokoh. Ia memiliki dinding sel gram negatif dan biasanya diamati sebagai batang spiral melingkar rapat, dengan dimensi lebar berkisar antara 0,2-0,5 μm dan panjang 3-5 μm . Organisme ini memiliki rentang 2-6 putaran heliks teratur. Motilitas tinggi, suatu karakteristik yang ditunjukkan oleh flagela politrikus terminal, dapat diamati dan ditunjukkan dengan menggunakan pengamatan medan gelap. Prosedur impregnasi perak, seperti teknik Fontana-Tribondeau, dapat digunakan untuk mewarnai flagela. Berbeda dengan klaim sebelumnya, *Spirillum minus* belum

berhasil dibudidayakan dengan menggunakan media buatan, dan tata nama hanya didasarkan pada ciri visualnya. Belum ada upaya yang diketahui untuk menganalisis organisme dalam cairan tubuh dalam kaitannya dengan analisis urutan.

Bab 12

Bakteri Penambat Nitrogen

12.1 Bakteri Penambat Nitrogen

Nitrogen yakni nutrisi penting bagi tanaman. Pasokan nitrogen yang cukup terhadap tumbuhan ditandai dengan tumbuh kembang tumbuhan yang cepat serta warna daunnya hijau tua. Nitrogen yang tidak seimbang ataupun terlalu banyak unsur hara tersebut dilakukan perbandingan terhadap unsur lainnya sebagaimana K, P dan S bisa menyebabkan periode pertumbuhan lebih lama dan pematangan lebih lambat. Seringkali, unsur hara nitrogen dalam tanah kurang, sehingga berkontribusi pada berkurangnya hasil panen. Di atmosfer, nitrogen berbentuk gas dan molekul dinitrogen (N_2) begitu melimpah, terhitung kisaran 80% dari total jumlah gas di atmosfer, tetapi tidak bisa dipakai secara langsung bagi metabolisme hewan atau tumbuhan taraf tinggi. Wujud nitrogen yang bisa diserap tumbuhan dari tanah ialah amonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3). (Tisdale, 1985). Dua wujud nitrogen itu mayoritas asalnya dari penambatan nitrogen udara oleh mikroba tanah dan pupuk.

Efisiensi pemakaian pupuk urea begitu rendah, biasanya hanya mencapai 30-40%, hingga pada sejumlah peristiwa lebih rendah (Khanif, 2004). Bahkan,

beberapa nitrogen dari pupuk urea yang dipakai hilang lewat sejumlah mekanisme, khususnya penguapan amonia, pencucian dan denitrifikasi, hingga menyebabkan permasalahan pencemaran lingkungan (Choudhury, 2005) Penguapan serta denitrifikasi amonia mencemari udara dengan menghasilkan gas rumah kaca sebagaimana N_2 dan N_2O . Pencucian nitrat (NO_3^-) bisa menimbulkan air tanah tercemar. Permasalahan ini menjadi perhatian besar para ahli lingkungan serta pertanian di seluruh dunia. Bahkan, produksi pupuk nitrogen membutuhkan energi yang begitu besar serta tidak terbarukan. Pemakaian teknologi BNF (fiksasi nitrogen biologis) bisa mengurangi pemakaian urea selaku sumber nitrogen, meminimalisir penipisan bahan organik tanah serta mengurangi pencemaran lingkungan dan patut mendapat perhatian. Bersumber (Yuniarti, 2009a) mengoptimalkan fiksasi nitrogen biologis di atmosfer adalah pilihan yang cocok guna meminimalisir pemakaian pupuk nitrogen.

Beberapa mikroorganisme air dan tanah mampu secara langsung mempergunakan nitrogen atmosfer menjadi sumber nitrogen guna kelangsungan hidupnya. Tergantung pada metode fiksasi nitrogen, terdapat 2 kelompok mikroorganisme: (1) pemecah nitrogen non-simbiosis, yakni mikroorganisme yang mampu merubah molekul nitrogen menjadi amonium tanpa menggantungkan diri terhadap organisme lainnya; (2) Pemfiksasi nitrogen secara simbiosis, khususnya mikroorganisme yang mengikat nitrogen dengan hidup bersamaan di akar kacang-kacangan serta tanaman lainnya.

Penambatan nitrogen biologis non-simbiotik dijalankan oleh mikroorganisme bebas. *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Azotobacter*, *Herbaspirillum* dan *Azospirillum* sudah terbukti mempunyai kemampuan memfiksasi N_2 . (James and Olivares, 1997). Bahkan, *Azotobacter* adalah bakteri pengikat N_2 yang bisa memperoleh zat perangsang pertumbuhan sitokinin dan giberelin yang merangsang tumbuh kembang akar (Alexander, 1977). Populasi *Azotobacter* di tanah terpengaruh oleh pemupukan. Aspek yang berdampak pada penekanan nitrogen non-simbiosis adalah aspek lingkungan, khususnya sifat fisik dan kimia habitat (Imas, 1989).

Aspek-aspek tersebut mencakup:

1. Tersedianya senyawa nitrogen

Mikroorganisme penambat N_2 biasanya juga bisa memanfaatkan senyawa nitrat, amonium, serta nitrogen organik. Amonium murah dan, bersamaan dengan senyawa yang bisa diubah menjadi amonium

(sebagaimana nitrat dan urea), ialah penambat nitrogen yang teramat efektif.

2. Tersedianya nutrien anorganik

Ketika mikroorganisme pengikat nitrogen dibudidayakan dalam wadah yang kaya akan garam amonium serta senyawa nitrogen lain, sejumlah nutrisi anorganik dibutuhkan sedikit dibanding pada wadah bebas nitrogen.

3. Jenis sumber energi yang ada

Untuk organisme heterotrof, ketersediaan sumber energi ialah aspek terpenting yang mengurangi laju serta tingkat asimilasi N₂. Pengurangan selulosa, gula sederhana, jerami ataupun sisa-sisa tanaman dengan rasio C/N yang tinggi seringkali mengoptimalkan konversi nitrogen secara signifikan..

4. pH

pH memiliki dampak yang nyata: Cyanobacteria dan Azotobacteria dianggap begitu sensitif terhadap tanah di bawah pH 6,0, sementara Beijerinckia tidak sensitif serta bisa bertumbuh kembang dan memblokir N₂ dalam pH 3-9.

5. Kelembaban Tanah

Kelembaban tanah seringkali menjadi penentu laju fiksasi nitrogen serta kadar air optimal, tergantung banyaknya bahan organik dan tanah yang ada. Bila kelembaban begitu tinggi, kondisi aerobik berganti menjadi anaerobik.

6. Suhu

Suhu optimum untuk fiksasi nitrogen adalah suhu sedang. Pelepasan berhenti dalam suhu beberapa derajat di atas suhu optimal. Pada sejumlah wilayah utara dengan iklim sedang, pengurangan nitrogen terus terjadi di musim dingin. Mikroorganisme yang bertanggung jawab diyakini ialah lumut kerak atau alga.

Kandungan nitrogen total memperlihatkan banyaknya nitrogen pada bahan organik yang diberikan inokulum inhibitor N, khususnya asam amino, protein, nitrogen mineral dan 8 amina,. Kemudian (Sutanto, 2002) memaparkan seluruh nitrogen dalam kompos bisa dijadikan

energi serta makanan untuk mikroorganisme sebagaimana bakteri. Makin tinggi kandungan nitrogen total pada kompos maka makin tinggi pula kegiatan mikroorganisme (bakteri).

Konsentrasi N yang rendah di awal pengomposan menyebabkan terbentuknya populasi bakteri yang sedikit lantaran nilai C/N awal kotoran sapi masih tinggi. Mikroba memecah senyawa karbon menjadi sumber energi serta mempergunakan nitrogen guna sintesis protein. Dalam rasio C/N 30-40, mikroba menerima C cukup guna energi serta nitrogen guna sintesis protein. Bila rasio C/N teramat tinggi, mikroba akan membutuhkan banyak nitrogen guna sintesis protein, hingga degradasi menjadi lambat. Guna mengurangi rasio C/N dibutuhkan perlakuan khusus sebagaimana penambahan mikroorganisme yang mengandung selulosa ataupun penambahan kotoran hewan, lantaran kotoran binatang kaya akan senyawa yang mengandung nitrogen.

Kapabilitas bakteri pengikat N non-simbiotik dalam memfiksasi nitrogen tanpa adanya inang serta kapabilitasnya agar hidup dalam keadaan asam menjadikan golongan bakteri tersebut sangat toleran pada lingkungannya. Genus *Azotobacter* bertumbuh kembang dalam keadaan NH_3 dan dalam berbagai wadah sebagaimana alkohol, karbohidrat dan asam organik. *Azotobacter* ialah organisme aerobik obligat, tetapi enzim nitrogenasenya, berupa nitrogenase lainnya, begitu sensitif pada oksigen, hingga *Azotobacter* menjalankan respirasi yang kuat guna menjaga nitrogen dari oksigen, hingga kadar oksigen intraseluler *Azotobacter* cenderung lebih rendah (Brock, 1994). Bersumber (Rao, 2007), 9 bakteri pengikat N non-simbiotik dapat menghasilkan kisaran 10-15 kgN/ha/tahun bergantung pada ketersediaan sumber karbonnya.

12.2 Mikroba Pelarut Fosfat

Mikroba pelarut fosfat tersusun atas jamur dan bakteri. Golongan bakteri pelarut fosfat diantaranya *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Brevibacterium* dan *Escherichia*, sementara golongan jamur mencakup *Penicillium*, *Aspergillus*, *Humicola*, *Culvularia* dan *Phoma*. Mikroba dengan kapabilitas melarutkan P yang tinggi biasanya mempunyai kemampuan melarutkan K yang tinggi. Pemberian inokulum mikroba pelarut P pada riset berikut harapannya bisa mengoptimalkan kelarutan P serta mengoptimalkan kegiatan bakteri pada tahapan dekomposisi. Vaksin yang diberi ialah *Pseudomonas fluorescens* dan *Aspergillus niger*.

Bersumber (Buntan, 1992) bahwasanya dalam aktivitasnya, bakteri pelarut P memperoleh asam organik sebagaimana asam glutamat, sitrat, laktat, suksinat, glioksalat, oksalat, fumarat, malat, alfa-ketobutirat dan tartarat. Peningkatan asam organik ini umumnya menghasilkan perhitungan pH.

Mikroorganisme yang terlibat pada mekanisme larutan fosfat meliputi sekelompok bakteri: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus* diartikan “fosfobakteri”, sementara dari golongan jamur: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Sklerotium* dan *Fusarium*. Bersumber hasil riset (Goenadi, 1999), memaparkan bahwasanya jamur bisa membuat fosfat larut alami lebih cepat. Pelarutan fosfat dari bakteri pelarut fosfat terjadi lantaran bakteri larut fosfat melepas zat organik yang bisa menjadikan kation terikat P menjadi tidak aktif dengan cara berikatan terhadap zat organik yang dikeluarkan bakteri tersebut. Jenis asam organik sangat penting daripada jumlahnya. Efektivitas asam organik ini bergantung terhadap keadaan lingkungan mikro tanah.

12.3 Interaksi antara Mikroba Penambat Nitrogen dan Pelarut Fosfat

Inokulasi ganda pada jamur dan bakteri yang larut fosfat menghasilkan peningkatan serapan P terbesar dibanding inokulasi tunggal pada jamur atau bakteri semata. Kondisi tersebut menunjukkan bahwasanya jamur dan bakteri pelarut fosfat yang terindikasi ialah *Aspergillus niger* dan *Pseudomonas sp.* Bisa bertindak sinergis pada pelarutan fosfat hingga memperbanyak fosfat.

Hasil riset terdahulu memaparkan bahwasanya terdapat hubungan nyata antara pelarut fosfat dengan inhibitor nitrogen inokulasi mikroorganisme. Inokulasi ganda dengan jamur dan bakteri pelarut fosfat menambah serapan P secara signifikan. Sebagaimana yang dijelaskan pada riset (Widawati, 2010) bahwasanya Aktivasi jamur *Trichoderma virida*, *Aspergillus niger* dan *Chaetomium sp.* bisa mempercepat tahapan pematangan kompos serta menurunkan rasio C/N berdasarkan Standar Tata Niaga Kompos yang ditetapkan oleh Pusat Teknologi Pangan dan Pupuk.

Inokulum yang seringkali diberi pada tahapan pengomposan ialah inhibitor nitrogen. Satu diantara inokulum penambat nitrogen ialah *Azotobacter*. Kegiatan *Azotobacterium* pada fiksasi nitrogen menambah banyaknya sel bakteri mati sebagai sumber nitrogen sesudah bakteri membusuk. Pertumbuhan tersebut terkait dengan saling sinergi, baik diantara populasi inokulum ataupun terhadap mikroba lainnya dalam lingkungan serupa yang bersaing merebutkan tempat tumbuh dan unsur hara (Hindersah, 2004). Hasil riset (Yuniarti, 2009) memaparkan bahwasanya inokulasi mikroba pelarut fosfat (*Penicillium sp.* dan *Pseudomonas sp.*) disertai pupuk P tidak memperlihatkan hubungan nyata pada populasi mikroba pelarut fosfat. Pemberian inokulan mikroba yang larut fosfat (bakteri dan jamur) ke dalam kompos menyebabkan persaingan antar kegiatannya. Sehingga pemberian inokulum mikroba pelarut P tidak menambah populasi jamur dan bakteri pelarut P.

12.4 Campuran Bahan Organik dan Batuan Fosfat Alam sebagai Substrat bagi Mikroorganisme

Kotoran sapi yakni bahan kompos yang baik lantaran cenderung bebas antibiotik dan logam berat. Rendahnya kandungan fosfor dalam pupuk bisa ditutupi oleh sumber lainnya. Prinsip pengomposan ialah mengurai sampah organik menjadi pupuk organik lewat aksi mikroorganisme.

Pupuk kandang yakni satu diantara bahan baku pembentukan kompos. Kotoran ternak tercipta dari hasil penguraian kotoran binatang, berdalam bentuk padat (sebagaimana feses) ataupun berbentuk cair (sebagaimana urin),

hingga penampakan, warna, bau, tekstur dan kandungan airnya tidak lagi sesuai dengan aslinya. Pemanfaatan langsung batuan fosfat menjadi pupuk fosfat ialah satu diantara upaya guna menyelesaikan mahalannya harga pupuk serta minimnya efisiensi pupuk superfosfat (Adiningsih, 1998) . Tetapi lantaran sifat batuan fosfat yang sulit larut pada air, laju pelarutannya tidak seimbang terhadap keperluan fosfat tanaman. Kemudahan penguraian bahan organik berhubungan erat terhadap rasio kandungan unsur hara. Umumnya, makin rendah rasio konsentrasi N dan C pada bahan organik, maka bahan organik tersebut makin cepat dan gampang terurai. Sehingga, guna mempercepat penguraian bahan organik dengan rasio N dan C yang tinggi, seringkali ditambah kapur dan pupuk nitrogen, yang meningkatkan rasio kedua unsur hara itu dan menjadikan keadaan lingkungan yang lebih baik untuk pengurai. Bahkan kadar bahan juga berdampak pada tahapan pengomposan, kantaran tambahan arang dalam produksi arang kompos tidak hanya bisa mempercepat proses tetapi juga menambah populasi mikroba termasuk bakteri. Peranan karbon disini ialah menjadi rumah bagi bakteri ataupun media tumbuhnya bakteri, lantaran arang sebagai sumber karbon. Diketahui dari sejumlah riset lainnya bakteri ialah total populasi terbesar. Dipercayai bahwasanya bakteri lebih aktif dalam selulolisis dibanding actinomycetes dan jamur (Rao, 1994).

Penyediaan bahan organik bisa menambah metabolisme dan jumlah organisme tanah dan mengoptimalkan kegiatan mikroorganisme saat menguraikan bahan organik. Pemakaian bahan organik bisa meningkatkan aktivitas mikroorganisme serta suplai unsur hara ke dalam tanah. Bahan organik kaya akan beberapa enzim serta zat pertumbuhan yang bisa menstimulasi tumbuh kembang mikroorganisme dan tanaman. Peran bahan organik pada tanah bisa menambah kegiatan organisme tanah dan berperan menjadi sumber energi untuk mikroba tanah.

Hasil riset (Noor, 2008) memaparkan bahwasanya penerapan pupuk fosfat alam yang dicampur bersama kombinasi bahan perlakuan pupuk 7,5% fosfat alam + pupuk 92,5% bisa menambah P yang ada hingga 30% dibanding kontrol. Campuran yang diinokulasi bersama bakteri pelarut bisa menambah nilai P yang ada hingga 48% dibanding kontrol (Noor, 2008). Pada kondisi ini, koefisien perbandingan campuran batuan fosfat dengan bahan organik sebagai penentu jumlah pelepasan P dan N (Soelaeman, 2008)

Bab 13

Bakteri Gram Negatif dan Non Fermentative

13.1 Bakteri Gram Negatif

Struktur molekuler dari selaput sel bakteri sangat penting dipelajari untuk memahami peran mereka dalam pertumbuhan bakteri. Susunan spasial dari lipid dalam membran sel bakteri Gram-negatif, khususnya, telah menarik perhatian penelitian yang signifikan dalam beberapa tahun terakhir. Gram-negatif memiliki lapisan luar tambahan yang disebut membran luar. Struktur membran ini memiliki peran penting dalam pertahanan bakteri terhadap pengaruh lingkungan eksternal (Furse & Scott 2016).

13.1.1 Karakteristik Bakteri Gram Negatif

Bakteri Gram-negatif memiliki dua lapisan membran sel, yaitu membran dalam dan membran luar. Molekul-molekul kecil sebagian besar tidak dapat menembus membran luar dan mengakumulasi di dalam sel bakteri. Membran luar pada bakteri Gram-negatif memiliki struktur asimetris, terdiri dari lapisan

ekstraseluler yang terbuat dari unit lipopolisakarida (LPS) dan lapisan dalam yang terbuat dari fosfatidiletanolamina, fosfatidilgliserol, dan kardiolipin (Qiao et al., 2022).

Membran dalam bakteri Gram-negatif yang terdiri dari lapisan fosfolipid yang mirip dengan yang ditemukan pada bakteri Gram-positif. Lapisan dalam dari membran luar (OM) pada bakteri terdiri dari fosfolipid, yang mirip dengan lapisan dalam membran plasma. Namun, yang membedakan OM adalah adanya lapisan luar yang terbuat dari lipopolisakarida (LPS). LPS terdiri dari inti lipid dengan rantai panjang gula polar yang melekat padanya. LPS berperan penting dalam melindungi bakteri dari lingkungan eksternal. Komponen ini membentuk hambatan fisik yang mencegah zat-zat berbahaya dan senyawa antibakteri masuk ke dalam bakteri. Namun, hal ini juga menjadikan OM sebagai penghalang bagi obat-obatan yang diinginkan untuk mencapai targetnya di dalam sel bakteri. Banyak senyawa antibakteri yang telah dikembangkan untuk melawan infeksi bakteri, tetapi sebagian besar dari mereka bekerja dengan menghambat target di dalam kompartemen sitoplasma bakteri. Oleh karena itu, senyawa-senyawa ini harus melewati OM agar dapat mencapai targetnya. Saluran protein merupakan saluran hidrofilik yang terdapat pada OM dan memungkinkan zat-zat berpolar melewati lapisan luar bakteri ini. Beberapa senyawa antibakteri dapat menggunakan saluran porin ini untuk masuk ke dalam sel bakteri. Namun, tidak semua senyawa antibakteri dapat melewati saluran protein dengan mudah. Beberapa senyawa memiliki ukuran molekul yang terlalu besar untuk melewati saluran ini, sementara yang lain mungkin terhalang oleh selektivitas saluran porin. Selain itu, beberapa bakteri telah mengembangkan mekanisme resistensi untuk menghindari aksi senyawa antibakteri yang melewati OM (Spangler et al., 2018).

13.1.2 Jenis-jenis Bakteri Gram Negatif

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri yang terdapat pada mikrobiota usus vertebrata dan memiliki potensi menjadi patogen pada mamalia dan burung. *E. coli* merupakan jenis bakteri aerobik yang paling umum ditemukan dalam mikrobiota usus, meskipun jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri anaerobik dalam rasio 100:1 hingga 10.000:1. Pada manusia, *E. coli* ditemukan pada lebih dari 90% individu dengan konsentrasi per gram tinja berkisar antara 10⁷

hingga 10⁹ unit pembentuk koloni. Berbagai varian *E. coli* dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit, termasuk di luar usus seperti infeksi saluran kemih (ISK), infeksi dalam perut, paru-paru, kulit, serta jaringan lunak, juga termasuk dalam penyakit pada bayi baru lahir seperti meningitis (NBM) dan bakteremia. *E. coli* dapat menyebabkan berbagai jenis gangguan pencernaan, termasuk diare, termasuk sindrom hemolitik dan uremik (HUS) (Denamur et al., 2020).

Terdapat delapan jenis *E. coli* yang menyebabkan penyakit pada manusia, termasuk enam jenis yang telah diinvestigasi secara mendalam yang memengaruhi sistem pencernaan dan dua jenis yang mengakibatkan infeksi di luar sistem pencernaan, yang sering disebut sebagai *E. coli* patogen ekstra usus (ExPEC). Enam jenis patogen pencernaan tersebut mencakup enteropatogenik *E. coli* (EPEC), enterohemoragik *E. coli* (EHEC), enterotoksigenik *E. coli* (ETEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), enteroinvasif *E. coli* (EIEC), dan diffusely adherent *E. coli* (DAEC). ExPEC mencakup *E. coli* uropatogenik (UPEC) dan *E. coli* yang berhubungan dengan meningitis (NMEC). *E. coli* patogen bertanggung jawab atas banyak wabah besar diare pada bayi, diare berdarah, sistitis, pielonefritis, meningitis, dan sejenisnya. Diffusely adherent *E. coli* (DAEC) atau dalam bahasa Indonesia disebut sebagai *E. coli* yang melekat secara difus merupakan salah satu jenis bakteri *E. coli* yang dapat menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan manusia. Semakin banyak *E. coli* yang diidentifikasi sebagai penyebab penyakit menular, seperti strain *E. coli* yang memproduksi toksin Shiga tipe baru O104:H4, yang menyebabkan wabah penyakit menular melalui makanan yang luas dan parah di Jerman pada tahun 2011 (Liu et al., 2020).

2. Salmonella

Salmonella pertama kali ditemukan , pada tahun 1884 oleh D. E. Salmon seorang bakteriologis Amerika (Popa & Popa, 2021). (Untuk bahasa buku)*Salmonella* adalah jenis bakteri berbentuk batang yang

termasuk dalam kelompok bakteri Gram-negatif dan merupakan bagian dari keluarga Enterobacteriaceae. Salmonella adalah jenis bakteri Gram-negatif yang bergantung pada flagela untuk pergerakannya (Ehuwa et al., 2021). Terdapat dua spesies utama dalam Salmonella, yaitu Salmonella enterica dan Salmonella bongori, dengan lebih dari 2.600 serotipe, dan seluruh serotipe ini memiliki potensi menyebabkan penyakit pada manusia (Wang et al., 2021). Konsumsi makanan yang terkontaminasi Salmonella dapat menimbulkan gejala seperti diare, demam, kram perut, mual, muntah, dan sakit kepala (Shen et al., 2020).

Salmonella dapat dibagi menjadi dua kelompok utama, yaitu tifoid dan non-tifoid (NTS), berdasarkan kemampuannya menyebabkan penyakit pada manusia. Serovar tifoid adalah subkategori yang disebut spesialis (beradaptasi), yang hanya mampu menginfeksi dan mengkolonisasi sejumlah kecil inangnya, termasuk serovar Typhi, Sendai, dan Paratyphi A, B, dan C. Salmonella sangat beradaptasi dengan manusia dan primata tingkat tinggi sebagai reservoirnya. Gejala tifoid (Typhi dan Sendai) mencakup demam tinggi, diare, muntah, sakit kepala, dan dalam kasus yang ekstrem, kematian. Penyakit demam enterik (Paratyphi A, B, dan C) menunjukkan gejala yang lebih ringan, seperti diare, kram perut, demam, dan muntah, yang dapat berkembang menjadi septikemia. Penularan serovar-serovar dapat melalui air, susu, sayuran mentah, makanan laut, dan telur yang terkontaminasi. Spesies S. Typhi dan S. Paratyphi tidak memiliki hewan sebagai reservoir selain manusia dan primata tingkat tinggi, kehadiran bakteri ini menunjukkan adanya kontaminasi melalui penanganan makanan dan air yang kurang higienis.

3. Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa adalah jenis bakteri Gram-negatif yang sering dikaitkan dengan infeksi yang terjadi di rumah sakit, terutama pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah, serta infeksi kronis pada pasien-pasien yang menderita penyakit paru-paru struktural seperti fibrosis kistik. Bakteri ini dapat menyebabkan

berbagai jenis infeksi nosokomial, yang muncul sebagai pneumonia, infeksi luka operasi, infeksi saluran kemih, dan bakteremia. *P. aeruginosa* merupakan patogen yang sangat berbahaya karena memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dalam lingkungan yang beragam dan menginfeksi berbagai jenis jaringan tubuh manusia. Bakteri ini mampu menghasilkan berbagai enzim dan toksin yang memungkinkannya untuk menyebabkan kerusakan pada jaringan dan menghindari respons kekebalan tubuh. Salah satu alasan utama mengapa *P. aeruginosa* sering ditemukan di rumah sakit adalah karena bakteri ini dapat hidup di berbagai permukaan, termasuk peralatan medis dan lingkungan yang terkontaminasi. Selain itu, bakteri ini juga mampu membentuk biofilm yang kuat, suatu lapisan pelindung yang membuatnya lebih sulit untuk dijangkau dan dihancurkan oleh antibiotik atau sistem kekebalan tubuh. Infeksi yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* dapat menjadi sangat berbahaya, terutama pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah. Bakteri ini dapat menyebabkan pneumonia nosokomial, yang merupakan infeksi paru-paru yang terjadi setelah pasien menjalani perawatan di rumah sakit (Reynolds & Kollef (2021).

Penelitian epidemiologi telah menunjukkan bahwa sekitar 700.000 orang meninggal setiap tahun akibat infeksi bakteri yang menjadi resisten terhadap antibiotik. Pada populasi di Eropa, tingkat resistensi gabungan dari bakteri *P. aeruginosa* mencapai 12,9%. Infeksi yang terjadi di lingkungan rumah sakit yang disebabkan oleh *P. Aeruginosa* menjadi salah satu masalah utama dalam sektor pelayanan kesehatan karena terus mengembangkan resistensi terhadap antibiotik yang biasanya efektif (Qin et al., 2022).

13.2 Bakteri Non Fermentative

Bakteri Gram-negatif non-fermentatif (non-fermenters) menyumbang $\geq 15\%$ dari isolat yang diperiksa di sebagian besar laboratorium mikrobiologi klinis. Jenis utama yang menjadi perhatian adalah *Pseudomonas aeruginosa*,

Acinetobacter baumannii, *Stenotrophomonas maltophilia*, dan, dalam tingkat yang lebih rendah, anggota kelompok *Burkholderia cepacia* (Memish et al., 2012). Kelompok lain genus yang kurang sering diisolasi, seperti *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Brevimundus*, *Elisabethkingia*, *Flavobacterium*, dan *Ralstonia* (Gajdács et al., 2019).

13.2.1 Karakteristik Bakteri Non Fermentative

Non-fermenting Gram-negative bacteria (NFGNB) yaitu Bakteri Gram-negatif yang tidak melakukan fermentasi yang kelompok heterogen dari Proteobacteria, yang ditandai dengan ketidakmampuan mereka untuk melakukan fermentasi gula untuk menghasilkan energi bagi fungsi seluler vital bakteri tersebut. Infeksi yang timbul secara oportunistik ini sangat umum terjadi dan biasanya memengaruhi pasien yang sistem kekebalan tubuhnya sangat lemah dan dalam kondisi yang memburuk yang berusia di atas 60 tahun. Menafsirkan hasil positif NFGNB bisa menjadi hal yang rumit bagi para ahli mikrobiologi klinis, karena perlu dipastikan apakah kehadiran bakteri NFGNB tersebut merupakan kontaminan, kolonisator, atau patogen sejati berdasarkan gejala yang dialami oleh pasien dan faktor risiko yang relevan. (Gajdács et al., 2019).

13.2.2 Jenis-jenis Bakteri Non Fermentative

1. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii adalah bakteri kokobasilus Gram-negatif yang umumnya ditemukan dalam lingkungan dan tidak memiliki flagela (Whiteway et al., 2021). *Acinetobacter baumannii* adalah bakteri Gram-negatif yang termasuk dalam keluarga Moraxellaceae dan umumnya menjadi penyebab utama infeksi nosokomial. Jenis infeksi ini beragam dan dapat mencakup pneumonia yang terjadi di rumah sakit dan pneumonia yang terkait dengan penggunaan ventilator (HAP, VAP), infeksi saluran kemih, meningitis, bakteri, serta infeksi pada saluran pencernaan, kulit, dan luka (Kyriakidis et al., 2021).

Acinetobacter baumannii menjadi salah satu perhatian serius dalam pelayanan kesehatan karena kemampuannya untuk mengembangkan resistensi terhadap berbagai jenis obat. Hal ini disebabkan karena

kecenderungannya untuk memperoleh fenotip multidrug resistance (MDR), extensive drug resistance, dan pandrug resistance pada tingkat yang tidak terduga sebelumnya (Ezeddin et al., 2022).

2. *Stenotrophomonas maltophilia*

Stenotrophomonas maltophilia adalah bakteri Gram-negatif yang bersifat aerobik, berbentuk batang, dan tidak melakukan fermentasi. Bakteri ini dapat ditemukan di tanah alami atau lingkungan rizosfera tanaman (Ma et al., 2020). *Stenotrophomonas maltophilia* sangat umum di lingkungan sekitar. Bakteri ini sering ditemukan dalam berbagai tempat, terutama dalam sumber air seperti sungai, sumur, dan danau, serta dalam air minum kemasan, limbah, kotoran hewan ternak, tanah, tanaman, salad, ikan beku, dan susu mentah. Selain itu, bakteri ini juga pernah diisolasi dari hewan, khususnya spesies air, dan beberapa isolat dari hewan tersebut ditemukan memiliki kesamaan genetik dengan isolat yang menyebabkan infeksi pada manusia, menunjukkan kemungkinan adanya pertukaran galur atau gen antara isolat yang menyebabkan infeksi pada manusia. Isolat-isolat tertentu digunakan dalam produksi senyawa organik atau penguraian senyawa organik, membantu pertumbuhan tanaman melawan patogen jamur pertanian, dan membersihkan tanah atau air dari polutan.

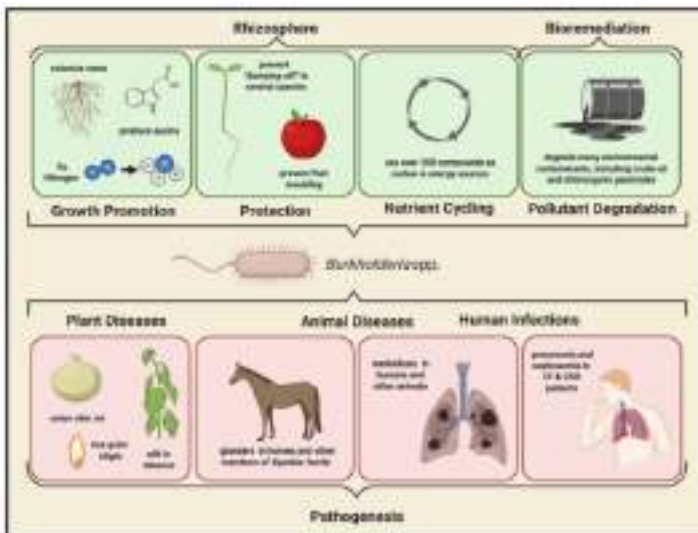
Stenotrophomonas maltophilia adalah salah satu dari enam patogen utama yang diisolasi dari pasien dengan pneumonia di Amerika Serikat. *S. maltophilia* adalah patogen yang muncul secara oportunistik dengan tingkat virulensi yang rendah, yang dapat menyebabkan beragam infeksi pada manusia. Keberadaan *S. maltophilia* berkaitan dengan tingkat kematian kasar yang signifikan, yang bisa mencapai 69% pada pasien yang mengalami bakteremia (Brooke, 2021).

3. *Burkholderia cepacia*

Genus *Burkholderia* termasuk dalam kelas β -proteobacteriae. *Burkholderia cepacia* (BC) adalah sekelompok bakteri gram-negatif yang menghasilkan enzim katalase dan tidak melakukan fermentasi laktosa, dan kelompok ini terdiri dari berbagai spesies. Bakteri Gram-

negatif ini sering ditemukan di lingkungan alam (Antariksa et al., 2019; Chang et al., 2020).

Burkholderia cepacia complex (BCC) adalah sekelompok bakteri yang berbeda secara genetik tetapi memiliki karakteristik fisik yang mirip, dan mereka dapat ditemukan secara alami dalam berbagai lingkungan ekologi yang unik dan memiliki kemampuan metabolisme yang sangat beragam. Walaupun memiliki potensi dalam bidang pertanian, BCC juga dianggap sebagai patogen nosokomial oportunistik yang memiliki potensi besar untuk menyebabkan infeksi pada pasien dengan sistem kekebalan tubuh yang melemah, fibrosis kistik, penyakit granulomatosis kronis, dan perangkat medis yang tertanam. Bakteri ini terlibat dalam infeksi pada sistem pernapasan, sistem kemih, sistem peredaran darah, dan sistem saraf pusat (Jia et al., 2022).



Gambar 13.1: Mekanisme Infeksi *Burkholderia* spp (Lauman & Dennis, 2021).

Bab 14

Bakteri Batang (Basil)

14.1 Pengertian Bakteri Batang (Basil)

Bakteri batang atau basil berasal dari kata bacillus yaitu bakteri yang memiliki sel berbentuk batang atau seperti silinder. Kata bacillus berasal dari bahasa Yunani, bacilli yang artinya batang atau tongkat yang ujung sel bentuknya bervariasi seperti persegi, bundar, meruncing dan sebagainya. Ukuran bakteri batang atau basil dengan diameter berkisar antara 0,5-1,2 μ dan panjang berkisar antara 3-7 μ (Trivedi, Pandey, & Bhadauria, 2010). Bentuk batang ini merupakan satu dari tiga bentuk paling umum dari sel prokariotik (selain bakteri bulat atau kokus dan bakteri spiral).

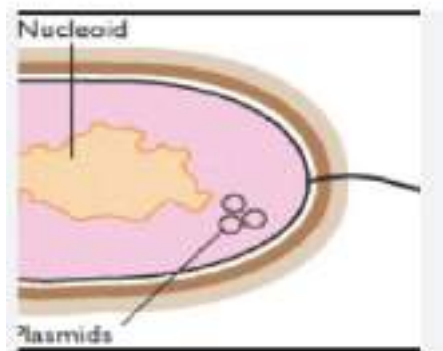
14.2 Klasifikasi Bakteri Batang (Basil)

Terdapat empat jenis bakteri batang atau basil, yaitu: (1) monobasil (monobacillus) yaitu bakteri bentuk batang yang tunggal atau hanya satu; (2) diplobasil (diplobacillus) yaitu bakteri bentuk batang yang tetap berpasangan

setelah membelah; (3) streptobasil (streptobacillus) yaitu bakteri bentuk batang yang gagal memisah setelah pembelahan sehingga membentuk suatu rangkaian sel seperti rantai; (4) kokobasil (coccobacillus) yaitu bakteri yang bentuknya masih membingungkan (ambiguous designation) sebab bakteri ini berbentuk batang tapi pendek sehingga kelihatan lebih mirip bakteri bentuk bulat atau kokus (Volk & Wheeler, 1988).

14.2.1 Monobasil (Monobacillus)

Monobasil (monobacillus) yaitu bakteri bentuk batang yang tunggal atau hanya satu (Volk & Wheeler, 1988). Contoh bakteri bentuk monobasil yaitu *Escherichia Coli* (bakteri yang membantu pembusukan di dalam colon atau usus besar), *Lactobacillus Species* (beberapa spesies bakteri ini berperan sebagai probiotik).



Gambar 14.1: Bakteri Monobasil (Pujiati, 2015)



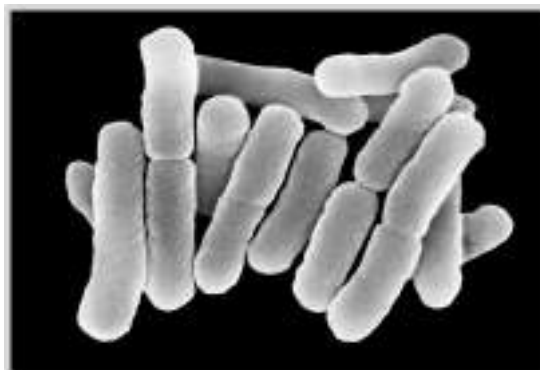
Gambar 14.2: Contoh Bakteri Monobasil: *Escherichia Coli* (Panchangam, 2015)

14.2.2 Diplobasil (Diplobacillus)

Diplobasil (diplobacillus) yaitu bakteri bentuk batang yang tetap berpasangan atau bergandengan dua (Volk & Wheeler, 1988).). Contoh bakteri bentuk diplobasil yaitu *Salmonella Thyposa* (bakteri penyebab penyakit tipus), *Bacillus Licheniformis* (bakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri berbahaya seperti vibrio), *Coxiella Burnetii* (bakteri penyebab penyakit demam Q), *Klebsiella Rhinoscleromatis* (bakteri penyebab penyakit scleroma), *Moraxella Bovis* (bakteri penyebab penyakit keratokonjungtivitis yang menular pada sapi).



Gambar 14.3: Bakteri Diplobasil (Pujiati, 2015)



Gambar 14.4: Contoh Bakteri Diplobasil: *Salmonella Thyposa* (Kunkel, 2018)

14.2.3 Streptobasil (Streptobacillus)

Streptobasil (*streptobacillus*) yaitu bakteri bentuk batang yang gagal memisah setelah pembelahan sehingga membentuk suatu rangkaian sel yang bergandengan memanjang seperti rantai (Volk & Wheeler, 1988). Contoh bakteri bentuk streptobasil yaitu *Bacillus Anthracis* (bakteri penyebab penyakit antraks), *Bacillus Subtilis* (bakteri yang menyebabkan penyakit yang mengganggu sistem imun), *Streptobacillus Moniliformis* (bakteri penyebab penyakit Rat Bite Fever), *Streptobacillus Levaditi*, *Streptobacillus Hongkongensis*.



Gambar 14.5: Bakteri Streptobasil (Pujiati, 2015)



Gambar 14.6: Contoh Bakteri Streptobasil: *Bacillus Anthracis*

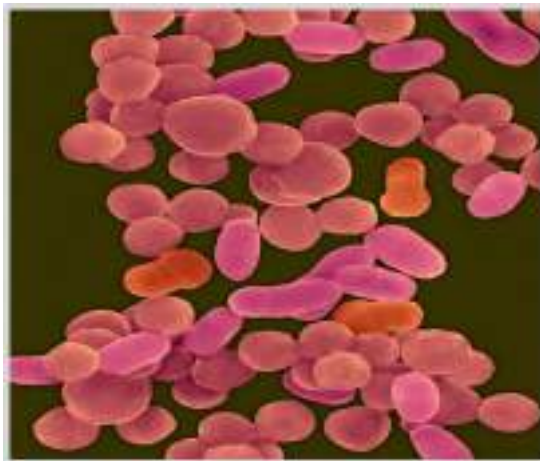
14.2.4 Kokobasil (Coccobacillus)

Kokobasil (*coccobacillus*) yaitu bakteri yang bentuknya membingungkan (*ambiguous designation*) sebab bakteri ini berbentuk batang tapi pendek sehingga kelihatan lebih mirip bakteri bentuk bulat atau kokus dan sering

disalahartikan sebagai kokus (Boleng, 2015). Contoh bakteri kokobasil yaitu *Haemophilus Influenzae* (penyebab penyakit flu), *Gardnerella Vaginalis*, dan *Chlamydia Trachomatis*.



Gambar14.7: Bakteri Kokobasil



Gambar 14.8: Contoh Bakteri Kokobasil: *Haemophilus Influenzae*

14.3 Bakteri Batang Positif Gram

14.3.1 Bacillaceae

Bacillaceae adalah bakteri bentuk batang berspora (endospora) yang bersifat positif gram. Bacillaceae terbagi dalam dua genus, yaitu: (1) genus *Bacillus* dan (2) genus *Clostridium* (Mulec, 2015).

Morfologi genus bacillus yaitu bentuk batang atau basil kecil dengan ukuran $0,3-2,2 \mu\text{m} \times 1,2-7,0 \mu\text{m}$, bersifat aerob. Spesies yang penting dari genus bacillus yaitu: (1) bacillus anthracis, penyebab penyakit antraks yang banyak ditemukan pada penyakit zoonosis, infeksi pada ternak lembu, kambing, domba dan babi. Pada manusia antraks dapat menyebabkan infeksi kulit "malignant pustule" yang dapat berkembang menjadi toksemia, infeksi paru-paru "wool sorters disease" yang terjadi karena inhalasi spora dari bulu domba, infeksi pada usus halus yang disertai dengan gangrene dan infeksi selaput otak setelah bakteremia; (2) bacillus subtilis, dapat menyebabkan meningitis, endokarditis, infeksi mata dan lain-lainnya; (3) bacillus cereus, dapat menyebabkan keracunan makanan oleh enterotoksin yang terdapat pada makanan seperti nasi yang telah dimasak tetapi kemudian diletakkan di tempat yang hangat sehingga terjadi sporulasi dan terbentuklah toksin, juga dapat menyebabkan penyakit pneumonia dan bronkopneumonia (Boleng, 2015).

Genus clostridium, merupakan bakteri batang atau basil yang bersifat anaerob, biasanya berflagel dan memiliki spora, dapat hidup di air, tanah dan di dalam saluran pencernaan hewan, spesies yang penting dari genus clostridium yaitu: (a) clostridium tetani, penyebab penyakit tetanus pada manusia. Banyak terdapat di alam, tanah, feses kuda dan binatang lainnya. Ada banyak tipe yang dapat dibedakan dengan antigen flagel. Semua tipe membentuk toksin yang sama; (b) clostridium perfringens, dikenal dengan nama clostridium welchii. salah satu penyebab dari gangren gas (myonecrosis), dapat menyebabkan keracunan makanan oleh enterotoksin yang termolabil atau enteritis nekrotik. Ada lima tipe clostridium perfringens yaitu tipe A, B, C, D, E pada manusia yang menimbulkan penyakit yaitu tipe A dan C. Tipe A dapat menyebabkan gangren gas dan keracunan makanan, sedangkan tipe C menyebabkan jejunitis, karena konsumsi daging babi dengan gejala yang muncul yaitu disentri, sakit perut dan muntah-muntah; (c) clostridium botulinum, terdapat secara luas di alam, kadang ada dalam feses binatang. Terdapat enam tipe berdasarkan toksin, yaitu A, B, C, D, E, F. Pada manusia didapatkan tipe A, B dan E. Biasanya tidak menyebabkan infeksi pada luka, tetapi menyebabkan keracunan makanan oleh toksin yang termakan bersama dengan makanan yang tercemar biasanya makanan yang berbumbu, makanan yang diasap, makanan kalengan yang dimakan tanpa dimasak terlebih dahulu. Kerja toksin yaitu memblokir pembentukan atau pelepasan aetylcholin pada hubungan saraf otot sehingga terjadi kelumpuhan otot. Gejala timbul setelah 18-96 jam makan toksin dengan keluhan pada penglihatan karena otot mata yang tidak ada koordinasi, sulit menelan, dan sulit berbicara. Kematian biasanya karena

paralisis otot pernapasan atau terjadinya henti jantung (cardiac arrest) (Syahrurachman, dkk, 1994).

14.3.2 *Corynebacterium*

Genus *corynebacterium* awalnya ditetapkan sesuai dengan basilus difteri, kemudian ditambahkan beberapa spesies lain dari binatang yang mempunyai morfologi sangat mirip, oleh karena adanya kesamaan morfologi maka dianggap ada hubungan keluarga. *Coryneform* berasal dari sumber lain selain dari binatang dan manusia, maka digolongkan ke dalam genus ini. Morfologi *coryneform* yaitu batang yang pleomorf dan positif gram, tidak membentuk spora, tidak tahan asam, dan tidak bisa bergerak. Dari semua keterangan kemotaksonomi yang diperoleh, kebanyakan ahli taksonomi berpendapat bahwa genus *corynebacterium* harus dibatasi pada organisme-organisme yang dinding selnya mengandung asam mesodiaminopimelik, arabinosa, galaktosa, dan asam mikolik dengan rantai pendek, dan sejumlah besar dari spesies-spesies ini merupakan fakultatif anaerob (Bernard, 2012).

Adanya kekerabatan antara *corynebacteria* pada manusia dan binatang dengan *mycobacteria* dan *nocardia* karena mempunyai kesamaan yaitu pada dinding sel, khususnya dengan adanya arabinosa, asam mesodiaminopimelik, asam mikolik dan galaktosa. Difteroid merupakan istilah yang digunakan dalam bakteriologi kedokteran untuk batang positif gram yang mirip dengan *corynebacterium diphtheriae* sehingga bisa keliru dan dikira adalah spesies dari *corynebacterium*. Difteroid merupakan bakteri batang yang pleomorf positif gram dan mengandung granula metakromatik. Sel-selnya berderet-deret dengan bentuk palisade, berbentuk huruf V, dan menyerupai konfigurasi cuneiform, katalase positif, tidak bergerak, tidak membentuk spora, tidak tahan asam, dan cenderung untuk bercabang (Boleng, 2015).

Corynebacterium diphtheriae bersifat toksigenik dapat menyebabkan penyakit difteria yaitu infeksi akut terutama pada saluran napas bagian atas, kadang-kadang dapat menginfeksi kulit, konjungtiva dan vulva. Difteria kulit sering dijumpai di daerah-daerah tropik, terutama menyerang anak-anak usia kurang dari 15 tahun yang tidak diimunisasi dan terbanyak menyerang pada anak usia antara 1-9 tahun. Difteria kulit dapat pula menyerang orang dewasa yang tidak divaksinasi atau pada bayi yang baru lahir. Difteria pada saluran pernapasan, pada umumnya didapati adanya lesi primer di tenggorokan atau nasofaring, yang tampak terbentuknya pseudomembran yang berwarna keabu-abuan. Pada kasus ringan difteria pada saluran pernapasan mungkin tidak terbentuk

pseudomembran. Morfologi difteri berbentuk batang atau basil dengan ukuran 1,5-5 μm x 0,5-1 μm , biasanya pada salah satu bagian ujung menggembung sehingga berbentuk gada, positif gram, tidak berspora, tidak bergerak, dan tidak tahan asam (Syahrurachman, dkk, 1994).

14.3.3 *Lactobacillus*

Genus *Lactobacillus* mampu memproduksi sejumlah asam laktat dari karbohidrat sederhana sehingga dapat menciptakan suasana asam yang mampu mematikan kuman lain yang tidak berspora. Secara morfologik berbentuk batang atau basil positif gram dan tidak bergerak. Pada dasarnya *Lactobacillus* bersifat non-patogen yang penting dalam industri fermentasi, terutama pada proses pembuatan susu. Beberapa jenis *Lactobacillus* merupakan bagian dari flora normal usus, terutama ditemukan pada orang yang banyak mengkonsumsi gula (laktosa). Vagina bayi yang baru lahir dapat ditemukan *Lactobacillus anaerob* (basil *Döderlein*) yang akan menetap beberapa minggu selama vagina masih bersifat asam, dan apabila pH vagina menjadi netral maka keadaan ini akan menetap terus sampai pubertas dan akan terjadi flora campuran dengan kuman kokus (Aini, 2021).

Pada masa pubertas *Lactobacillus* akan muncul kembali dalam jumlah besar dan akan berperan mempertahankan pH vagina tetap asam, karena kemampuan memproduksi asam dari karbohidrat yaitu terutama glikogen. Keadaan demikian merupakan mekanisme penting dalam mencegah berkembangnya kuman lain yang mungkin berbahaya bagi vagina. Pada kondisi tertentu yaitu saat *Lactobacillus* tertekan pertumbuhannya karena pemberian obat-obat antimikroba, maka sel atau berbagai jenis bakteri lain akan meningkat jumlahnya dan menimbulkan gangguan sehingga dapat menyebabkan peradangan. Pada masa menopause jumlah *Lactobacillus* akan berkurang secara alami, sedangkan flora campuran akan mulai muncul dan berkembang. Mukus atau lendir serviks mengandung lisosim yang mempunyai khasiat sebagai antibakteri. Pada beberapa wanita introitus vagina mengandung sejumlah flora yang serupa dengan yang terdapat pada perineum dan daerah perianal. Keadaan ini merupakan faktor predisposisi bagi timbulnya infeksi traktus urinarius secara berulang (Syahrurachman, dkk, 1994).

14.3.4 *Listeria* dan *Erysipelothrix*

Dalam genus *Listeria* dan *Erysipelothrix* terdapat dua organisme yang penting bagi kedokteran yaitu: (1) *Listeria monocytogenes*; (2) *Erysipelothrix rhusiopathiae* (*Erysipelothrix insidiosa*). *Listeria monocytogenes* dapat ditemukan dan tersebar di alam dan beberapa binatang merupakan reservoir. Pada manusia *Listeria monocytogenes* sering menyebabkan meningitis, tetapi yang paling unik yaitu infeksi saluran genital pada wanita hamil serta infeksi pada janin saat masih dikandung atau saat bayi setelah dilahirkan. *Erysipelothrix rhusiopathiae* merupakan penyebab erisipeloid pada manusia, berupa infeksi pada kulit terutama pada orang-orang yang pekerjaannya berhubungan dengan hewan atau produk hewan (Wellinghausen, 2015).

Secara morfologi *Listeria monocytogenes* dan *Erysipelothrix rhusiopathiae* mirip dengan *Corynebacteria* sehingga pada awalnya masuk dalam famili *Corynebacteriaceae*, tetapi karena sifat-sifat lainnya ternyata lebih mirip dengan *Lactobacillaceae* sehingga kini dimasukkan dalam famili tersebut. *Listeria monocytogenes* bentuk kokobasil (*Coccobacillus*) positif gram, dalam preparat cenderung untuk membentuk rantai pendek terdiri dari 3-5 kuman, berukuran $0,4-0,5 \times 0,5-2,0 \mu\text{m}$ (Syahrurachman, dkk, 1994).

14.4 Bakteri Batang Negatif Gram

14.4.1 *Enterobacteriaceae*

Enterobacteriaceae merupakan famili yang terdiri dari sejumlah besar spesies bakteri yang sangat erat hubungannya antara satu dengan lainnya. Hidup di usus besar manusia dan hewan, tanah, air dan dapat pula ditemukan pada dekomposisi material. Famili *Enterobacteriaceae* pada keadaan normal hidup dalam usus besar manusia sehingga sering disebut dengan bakteri enterik atau basil enterik. Sebagian besar basil enterik tidak menimbulkan penyakit pada host (tuan rumah) bila tetap berada di dalam usus besar, tetapi pada keadaan-keadaan tertentu misalnya terjadi perubahan pada host atau bila ada kesempatan memasuki bagian tubuh yang lain, maka banyak diantara basil enterik ini akan menimbulkan penyakit pada setiap jaringan di tubuh manusia. Sebanyak 80% dari bakteri batang atau basil merupakan negatif gram yang diisolasi di laboratorium mikrobiologi klinik yaitu *Enterobacteriaceae*, dan

50% dari jumlah tersebut yaitu isolat yang berasal dari bahan klinik. Organisme-organisme di dalam famili enterobacteriaceae mempunyai peranan penting terjadinya infeksi nosokomial, misalnya penyebab infeksi saluran kemih, infeksi saluran napas, infeksi pada luka, peradangan selaput otak dan septikemia (Jenkins, 2017).

14.4.2 Eschericia

Eschericia coli banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal, tapi dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan travelers diarrhea, juga memiliki kemampuan menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus. Genus *escherichia* terdiri dari dua spesies yaitu: (1) *escherichia coli*; (2) *escherichia bermanii*. Morfologi berbentuk batang pendek atau kokobasil (*coccobacillus*), negatif gram, ukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , sebagian besar bergerak positif dan beberapa strain mempunyai kapsul (WHO, 2018).

14.4.3 Shigella

Shigella spesies merupakan patogen usus yang dikenal sebagai agen penyebab penyakit disentri basiler. Berada dalam tribe *escherichiae* karena sifat genetik yang saling berhubungan, tetapi dimasukkan dalam genus tersendiri yaitu genus *shigella* karena gejala klinik yang disebabkan nya bersifat khas. Terdapat empat spesies *shigella* yaitu: (1) *shigella dysenteriae*; (2) *shigella flexneri*; (3) *shigella boydii*; (4) *shigella sonnei*. Morfologi bentuk batang (basil), ukuran 0,6-0,7 μm x 2-3 μm , pada pewarnaan gram bersifat negatif gram, dan tidak berflagel (Steven, 2014).

14.4.4 Salmonella

Salmonella berasal dari genus *salmonella* yaitu agen penyebab bermacam-macam infeksi, mulai dari gastroenteritis ringan sampai dengan demam tifoid yang berat disertai bakteremia. Klasifikasi *salmonella* dalam tiga spesies yaitu: (1) *salmonella choleraesuis*; (2) *salmonella typhi*; (3) *salmonella enteritidis*. Morfologi berbentuk batang (basil), tidak berspora, pada pewarnaan gram bersifat negatif gram, ukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm , dan mempunyai flagel peritrikh (WHO, 2018).

14.4.5 Pseudomonadaceae

Morfologi genus pseudomonas yaitu batang (basil) negatif gram yang tidak meragi karbohidrat, hidup aerob di tanah dan air. Dalam habitat alam tersebar luas dan memegang peranan penting dalam pembusukan zat organik. Bergerak dengan flagel polar satu atau lebih. Ada yang patogen bagi binatang atau tanaman dan ada yang patogen bagi kedua-duanya. Kebanyakan spesies pseudomonas tidak menyebabkan infeksi pada manusia, tetapi cukup penting karena bersifat oportunistis patogen yaitu dapat menyebabkan infeksi pada individu dengan ketahanan tubuh yang menurun (Cousin, 1999).

14.4.6 Haemophilus

Beberapa spesies dari anggota genus haemophilus bersifat pathogen. Morfologi berbentuk batang (basil) kecil negatif gram dan tidak dapat bergerak. Pertumbuhan memerlukan faktor-faktor pertumbuhan yang terdapat di dalam darah (haemo artinya darah, philos artinya mencintai atau menyukai). Spesies haemophilus merupakan parasit pada manusia dan binatang dan terutama sebagai penghuni komensal saluran napas bagian atas manusia (Cooke, 2017).

14.4.7 Bordetella

Bordetella merupakan penyebab dari penyakit pertusis atau batuk rejan (whooping cough) yaitu penyakit akut saluran pernapasan yang ditandai dengan batuk paroksismal (paroxysmal coughing). Terdapat tiga genus bordetella yaitu: (1) bordetella pertussis; (2) bordetella parapertussis; (3) bordetella bronchiseptica. Morfologi berbentuk batang kecil atau kokobasil (coccobacillus) negatif gram yang tunggal, berpasangan atau membentuk kelompok-kelompok kecil (Booth, 2014).

14.4.8 Brucella

Brucella merupakan parasit obligat bagi binatang dan manusia. Saat ini dikenal enam spesies dalam genus brucella, yaitu: (1) brucella melitensis; (2) brucella abortus; (3) brucella suis; (4) brucella neonatomae; (5) brucella ovis; (6) brucella canis. Morfologi berbentuk batang kecil atau kokobasil (coccobacillus), negatif gram, ukuran 0,5-0,7 x 0,6-1,5 μm , tidak dapat bergerak, tidak berspora dan bersifat aerobik (Liu, 2015).

Daftar Pustaka

- Abul K. Abbas, MBBS; Andrew H. Lichtman, MD, P. (2009) *Basic Immunology*. 3rd edn. China: Elsevier.
- Adelberg, Jawetz, & Melnick. (2017). *Medical Microbiology*, 27 ED, Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & S. Gupta, R. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(12), 5575-5599.
- Adiningsih, S. (1998) 'Prospek dan Kendala Penggunaan P-Alam Untuk meningkatkan Produksi Tanaman Pangan Pada Lahan Masam Marjinal', in. Bogor.
- Adji, Dhirgo, and Henry Larashanty. (2007). "Perbandingan efektivitas sterilisasi alkohol 70%, inframerah, otoklaf dan ozon terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*." *Jurnal Sain Veteriner* 25.1
- Agustian, Agustian, Ari Prima Wahyudi, and Oktanis Emalinda. (2005). "Pertumbuhan Dan Perkembangan Mikroorganisme Tanah Pada Media Agar Ekstrak Tanah Yang Dipengaruhi Herbisida Glyphosat." *Jurnal Solum* 2.2
- Agustin, Sienny. (2023). *Bakteri Staphylococcus dan Penyakit yang Ditimbulkan*. Terakhir diperbarui: 25 Juni 2023. Diakses 11

- September 2023. <https://www.alodokter.com/kenali-bahaya-bakteri=staphylococcus-aureus>. .
- Aini, M., Rahayuni, S., & Mardina, V.(2021). Bakteri Lactobacillus dan Perannya Bagi Kehidupan. Available at: Jurnal Jeumpa, 614-624 BAKTERI Lactobacillus spp DAN PERANANNYA BAGI KEHIDUPAN | Request PDF (researchgate.net) (Accessed: August 27, 2023)
- Akbar, S. A., Ghazali, K. H., Hasan, H., Mohamed, Z., Aji, W. S., & Yudhana, A. (2022). Rapid bacterial colony classification using deep learning. Indonesian Journal of Electrical Engineering and Computer Science, 26(1). <https://doi.org/10.11591/ijeecs.v26.i1.pp352-361>
- Al-Awwaly, K. U. and Manab, A. (2007) 'Seleksi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida', Ternak Tropika, 6(2), pp. 79–87.
- Al-Kobaisi, M. (2007). Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology 24 th Edition. Medical Microbiology, 7(3).
- Alexander (1977) 'Introduction to Soil Microbiology', Second edition, Vol 7(1), p. 158.
- Alfred, B. and Heidi, S. (2015) Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual In General Microbiology. Thirteenth. New York: McGraw-Hill Education. Available at: <https://doi.org/10.1002/0471142956.cy1100s52>.
- Anonim. (2020). Acinobacter Infeksi Penularan & Penyakit Patogen. <https://id.healtandmedicineinfo.com/acinobacter-GL6>. Diakses 11 September 2023.
- Anthrax Photos. Available at: Bacillus Anthracis <https://www.cdc.gov/vaccines/vpd/anthrax/photos.html> (Accessed: September 2, 2023)
- Barry Chess (2020) Laboratory Applications in Microbiology A Case Study Approach. Fourth edi. New York: McGraw-Hill Education.
- Bernard, K. (2012). The Genus Corynebacterium and Other Medically Relevant Coryneform-Like Bacteria. Journal of Clinical Microbiology. Available at: <reference.medscape.com/medline/abstract/22837327> (Accessed: August 27, 2023)

- Bohrer, C. H., & Xiao, J. (2020). Complex Diffusion in Bacteria. In G. Duménil & S. Van Teeffelen (Eds.), *Physical Microbiology*, 1267, 15–43. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-46886-6_2
- Boleng, D. T. (2015) *Bakteriologi Konsep-Konsep Dasar*. Malang: Penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Boleng, Didimus Tanah. (2015). *Bakteriologi Konsep-Konsep Dasar*. Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang. Hal. 101-114. ISBN : 978-979-796-329-3.
- Booth, S. (2014). *Bordetella*. Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/veterinary-science-and-veterinary-medicine/bordetella> (Accessed: August 27, 2023)
- Brenner, D. J., & Farmer Iii, J. J. (2015). *Enterobacteriaceae*. *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*, 1-24.
- Briški, F., & Vuković Domanovac, M. (2017). *Environmental microbiology*. *Physical Sciences Reviews*, 2(11), 1-22. <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0118>
- Brock (1994) *Biology of Microorganism*. 7 th. Wisconsin: Englewood cliffs.
- Brooke, J. S. (2021). *Advances in the microbiology of Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical microbiology reviews*, 34(3), 10-1128.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2007). *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology*, 24th ed. New York: McGraw-Hill Medical.
- Bruslind, L. (2023). *Microbiology*. Oregon State University. <https://LibreTexts.org>
- Buchanan, R. E., Gibbons, W. E. (1974). *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed. The Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Budiatma. (2022). *Moraxella: karakteristik, morfologi, spesies, patologi* – Apatu.net. Biologi. May 12, 2022 4:11 am. Diakses 11 Septemeber 2023.
- Buján, N., Toranzo, A. E., & Magariños, B. (2018). *Edwardsiella piscicida: a significant bacterial pathogen of cultured fish*. *Diseases of aquatic organisms*, 131(1), 59-71.

- Buntan (1992) Efektifitas bakteri pelarut fosfat dalam kompos terhadap peningkatan serapan P dan efisiensi pemupukan P pada tanaman jagung. Bogor: IPB.
- Canellas, A. L. B. et al. (2021) ‘Vibrio species in an urban tropical estuary: Antimicrobial susceptibility, interaction with environmental parameters, and possible public health outcomes’, *Microorganisms*, 9(5). doi: 10.3390/microorganisms9051007.
- Cappuccino, J.G. and Welsh, C. (2017) *Microbiology, A Laboratory Manual*. Eleventh, Pearson Education Limited. Eleventh. Harlow, England: Pearson.
- Cappuccino, J.G.S.N. (2013) *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. 8th edn. Edited by H. Manurung, July; Vidayanti. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Cappucino, J. G. & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A laboratory manual*, 10th ed. Boston: Pearson.
- Carey, M. E., McCann, N. S., & Gibani, M. M. (2022). Typhoid fever control in the 21st century: where are we now?. *Current opinion in infectious diseases*, 35(5), 424-430.
- Carroll, K.C., Hobden, J.A., Miller, S., Morse, S.A., Mietzner, T.A., Detrick, B., Mitchell, T.G., McKerrow, J.H., & Sakanari, J.A. (2016) *Jawetz, Melnick, & Adelberg’s Medical Microbiology Twenty-Seventh Edition*. 27th ed. USA: McGraw-Hill Education.
- Chaichalerm, S. et al. (2012) ‘Culture of microalgal strains isolated from natural habitats in Thailand in various enriched media’, *Applied Energy*, 89(1), pp. 296–302.
- Chen, C. C. et al. (2021) ‘The interplay between *Helicobacter pylori* and gastrointestinal microbiota’, *Gut Microbes*. Taylor & Francis, 13(1), pp. 1–22. doi: 10.1080/19490976.2021.1909459.
- Choudhury, K.& (2005) ‘Nitrogen fertiliser losses from rice soils and control of environmental pollution problems’, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36 (11), pp. 1625–1639.
- Coccobacillus. Available at:
<https://www.gettyimages.com/photos/coccobacillus> (Accessed: September 3, 2023)

- Cooke, F., & Slack, M. (2017). Haemophilus. Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/haemophilus> (Accessed: August 27, 2023)
- Costello, P. J., Lee, T. H. and Henschke, P. (2001) 'Ability of lactic acid bacteria to produce N-heterocycles causing mousy off-flavour in wine', Australian Journal of Grape and Wine Research, 7(3), pp. 160–167.
- Cousin, M. A. (1999). Pseudomonadaceae. Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/pseudomonadaceae> (Accessed: August 27, 2023)
- Cyprowski, M. et al. (2018) 'Anaerobic bacteria in wastewater treatment plant', International Archives of Occupational and Environmental Health, 91, pp. 571–579.
- Damayanti, Berliana, et al. (2022) "Pengaruh media pertumbuhan dan pH terhadap aktivitas biosurfaktan dari bakteri *Serratia marcescens* strain MBC 1 pada minyak jelantah." Indonesian Journal of Chemical Analysis (IJCA) 5.1 01-08.
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., & Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology, 19(1), 37-54.
- Deni, J., & Penninckx, M. J. (1999). Nitrification and autotrophic nitrifying bacteria in a hydrocarbon- polluted soil. Applied and Environmental Microbiology, 65(9), 4008–4013. <https://doi.org/10.1128/aem.65.9.4008-4013.1999>
- Dinata, D.I. (2011) Bioteknologi. Edited by J. Manurung. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- DJOJOSUROTO, M. I. (2021) Isolasi Dan Enumerasi Bakteri Nitrifikasi (*Nitrobacter* sp.) Pada Ecological Floating Bed (EFB). Yogyakarta.
- Durand, S., Tomasini, A., Braun, F., Condon, C., & Romby, P. (2015). sRNA and mRNA turnover in gram-positive bacteria. In FEMS Microbiology Reviews (Vol. 39, Issue 3). <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv007>
- Edmondson, D. G. and Norris, S. J. (2021) 'In Vitro Cultivation of the Syphilis Spirochete *Treponema pallidum*', Current Protocols, 1(2), pp. 1–20. doi: 10.1002/cpz1.44.

- Ehuwa, O., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2021). Salmonella, food safety and food handling practices. *Foods*, 10(5), 907.
- Erkmen, O. (2021). Gram staining technique. In *Laboratory Practices in Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91017-0.00028-7>
- Ezeddin, M. O., Nasrul, E., & Alia, E. (2022). Prevalensi dan Pola Sensitivitas Antibiotik *Acinetobacter baumannii* di RSUP. Dr. M. Djamil Padang. *Majalah Kedokteran Andalas*, 45(1), 10-16.
- Faizah, U. N. and Tridayanti, A. A. (2022) 'PENGUJIAN SALMONELLA DENGAN MENGGUNAKAN MEDIA SSA DAN MEDIA TSIA PADA MAKANAN', *KENANGA : Journal of Biological Sciences and Applied Biology*, 2(1), pp. 58–64. doi: 10.22373/KENANGA.V2I1.1932.
- Farnia, Parissa et al. (2018) 'A review on the shape changes in pathogenic bacteria with emphasis on *Mycobacterium tuberculosis*', *Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ)*, 2(4), p. 242. doi: 10.4103/bbrj.bbrj_86_18.
- Frantz, E. et al. (2022) 'The effect of nutrient broth media on PEDOT:PSS gated OECTs for whole-cell bacteria detection', *Biosensors and Bioelectronics: X*, 12, p. 100268. doi: 10.1016/J.BIOSX.2022.100268.
- Furse, S., & Scott, D. J. (2016). Three-dimensional distribution of phospholipids in gram negative bacteria. *Biochemistry*, 55(34), 4742-4747.
- Gajdács, M., Burián, K., & Terhes, G. (2019). Resistance levels and epidemiology of non-fermenting gram-negative bacteria in urinary tract infections of inpatients and outpatients (RENFUTD): a 10-year epidemiological snapshot. *Antibiotics*, 8(3), 143.
- Garrity, A. (2005). Validation of publication of new names and new combinations previously effectively published outside the IJSEM. *Int J Syst Evol Microbiol*, 55, 2235-2238.
- Geo F Brooks; Janet S. Butel; Stephen A. Morse (2008) *Mikrobiologi Kedokteran*. 23rd edn. Edited by M.A. Jewetz. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Geo.F.Brooks; Janet S. Butel; Stephan A. Morse (2001) *Mikrobiologi Kedokteran*. 1st edn. Edited by dr.H.Eddy Mudiharti; Dr.dr.

- Kuntaman;Dr.dr.Eddy Bagus Warsito;Dr.dr. Ni Made Mertanasih;dr. Setio Harsono;dr. Lindawati Alimsardjo. Jakarta: Salemba Medika.
- Gil-Setas, A. et al. (2003) 'Blood Agar, Chocolate Agar, and Mycobacterium tuberculosis', *Journal of Clinical Microbiology*, 41(8), p. 4008. doi: 10.1128/JCM.41.8.4008.2003.
- Goenadi (1999) 'Phosphate-solubilizing fungi isolated from tropical forest soils.', *Menara Perkebunan*, 67, pp. 40–51.
- Goldman, E., & Green, L. H. (2015). *Practical handbook of microbiology*. CRC press.
- Haemophilus influenzae Disease. Available at: <https://www.cdc.gov/hidisease/about/photos.html> (Accessed: September 3, 2023)
- Hafsan. (2014). *Mikrobiologi Analitik*. Makassar: Alauddin University Press.
- Hamdiyati, Yanti. (2011)"Pertumbuhan dan pengendalian mikroorganisme II." Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Hastuti, Y. P., Rusmana, I., Nirmala, K., Affandi, R., & Tridesianti, S. (2019). Short Communication: Identification and characterization of nitrifying bacteria in mud crab (*Scylla serrata*) recirculation aquaculture system by 16S rRNA sequencing. *Biodiversitas*, 20(5), 1339–1343. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200524>
- Hider, R. C., & Kong, X. (2010). Chemistry and biology of siderophores. *Natural Product Reports*, 27(5), 637. <https://doi.org/10.1039/b906679a>
- Hindersah (2004) 'Aplikasi Pupuk Organik dan Ekstrak Cacing serta Cendawan Mikoriza terhadap Populasi Mikroba di Rhizosfir, Kolonisasi Mikoriza, Pertumbuhan dan Hasil Jagung Manis pada Ultisol', in. Jawa Barat: Prosiding AMI, pp. 32–40.
- Hogg, S. (2005). *Essential Microbiology*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley J.T., & Williams, S.T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th Ed., The Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD.
- Hucker, G. J., & Conn, H. J. (1923). Methods of gram staining. *Technical Bulletin of the New York State Agricultural Experiment Station*, 23(March).

- Hughes, R.B. & Smith, A.C. (2007). Capsule Stain Protocols. *American Journal of Microbiology*, 1–12.
- Hussey, M.A. & Zayaitz, A. (2007). Endospore Stain Protocol. *American Society for Microbiology*, 8, 1–11.
- Imas (1989) 'Bahan Pengajaran Mikrobiologi Tanah II', in. Bogor: Depdikbud.
- James and Olivares (1997) 'Infection And Colonization Of Sugar Cane And Other Graminaceous Plants By Endophytic Diazotrophs'. *Critical Reviews in Plant Science*, pp. 77–119.
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2006). *The enterobacteria*. American Society for Microbiology (ASM) Press, Washington, DC.
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2021). The changing face of the family Enterobacteriaceae (Order: "Enterobacterales"): New members, taxonomic issues, geographic expansion, and new diseases and disease syndromes. *Clinical microbiology reviews*, 34(2), 10-1128.
- Jawetz, E., Melnick, J.L.; Adelberg, A. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Alih Bahasa: H. Tonang. Jakarta: EGC.
- Jenkins, C. R., & Landraud, B. S. (2017). Enterobacteriaceae. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780702062858001805> (Accessed: August 27, 2023)
- Jia, Y., Liu, Y., Liu, Y., Yang, K., & Liu, Y. (2022). Clinical characteristics, drug resistance and death risk factors of Burkholderia cepacia infection in hematopoietic stem cell transplant patients. *BMC Infectious Diseases*, 22(1), 1-9.
- Kamil, I. (2008). *Pemanfaatan Bakteri Thiobacillus thiosparus untuk Mendegradasi Kandungan Sulfur dalam Gas Alam*. Skripsi. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.
- Kate Rittenhouse-Olson; Ernesto De Nurdin, M.. (2017) *Imunologi dan Serologi Klinis Modern*. Edited by dr. H.O.O.A. Mardella. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kazemi, E., Soofiyani, S. R., Ahangari, H., Eyvazi, S., Hejazi, M. S., & Tarhriz, V. (2021). Chemolithotroph Bacteria: From Biology to Application in Medical Sciences. 8(2), 81-89.

- Kementerian Kesehatan RI (2014) Petunjuk Teknis Pengendalian Leptospirosis. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Kementerian Kesehatan RI. Available at: https://ptvz.kemkes.go.id/storage/media-download/file/file_1619051335.pdf.
- Khan, F. M., & Gupta, R. (2020). *Escherichia coli* (E. coli) as an Indicator of Fecal Contamination in Groundwater: A Review. *Sustainable Development of Water and Environment: Proceedings of the ICSDWE2020*, 225-235.
- Khanif, C. dan (2004) 'Effects Of Nitrogen And Copper Fertilization On Rice Y Ield And Fertilizer N Itrogen Efficiency', *Pak. J. Sci. Ind*, 47 (1), pp. 50–55.
- Khodjojo, C. (1996) 'Isolasi Dan Identifikasi Genus Bakteri Aerob Dan Fakultatif Anaerob Pada Makanan Konnyaku Yang Rusak'. Available at: <http://digilib.ubaya.ac.id/pustaka.php/151423> (Accessed: 11 September 2023).
- Koops, H.-P., & Pommerening-Röser, A. (2001). Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiology Ecology*, 37(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00847.x>
- Krieg, N.R. & Holt, J.G. (1984). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st Ed., Vol. 1, The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Kumar, S. (2012). *Textbook of microbiology*. JP Medical Ltd., New Delhi.
- Kümmerli, R. (2022). Iron acquisition strategies in pseudomonads: mechanisms, ecology, and evolution. In *BioMetals*. Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s10534-022-00480-8>
- Kunkel, D., (2018). *Salmonella Typhi*. Available at: *Salmonella Typhi Photograph by Dennis Kunkel Microscopy/science Photo Library - Pixels* (Accessed: September 3, 2023)
- Kurnia, D. R. D., Permatasari, I. and Rafika, Y. (2015) 'Isolasi Mikroorganisme Anaerob Limbah Cair Tekstil Menggunakan Desikator Sebagai Inkubator Anaerobik', *Fluida*, 11(1), pp. 26–33.

- Kvich, L. et al. (2016) 'Incidence of *Propionibacterium acnes* in initially culture-negative thioglycollate broths—a prospective cohort study at a Danish University Hospital', *Clinical Microbiology and Infection*, 22(11), pp. 941–945. doi: 10.1016/J.CMI.2016.07.036.
- Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. D., & Tragiannidis, A. (2021). *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 10(3), 373.
- Lal, A. and Cheeptham, N. (2007) Eosin-Methylene Blue Agar Plates Protocol, American Society for Microbiology.
- Lau, N.-S., Matsui, M., & Abdullah, A. A.-A. (2015). Cyanobacteria: Photoautotrophic Microbial Factories for the Sustainable Synthesis of Industrial Products. *BioMed Research International*, 2015, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/754934>
- Lauman, P., & Dennis, J. J. (2021). Advances in phage therapy: targeting the *Burkholderia cepacia* complex. *Viruses*, 13(7), 1331.
- Lee, A. (1991) 'Spiral organisms: What are they? a microbiologic introduction to *helicobacter pylori*', *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 26(S187), pp. 9–22. doi: 10.3109/00365529109098220.
- Lee, H. M. and Lee, Y. (2008) 'A differential medium for lactic acid-producing bacteria in a mixed culture', *Letters in Applied Microbiology*, 46(6), pp. 676–681. doi: 10.1111/J.1472-765X.2008.02371.X.
- Leimer, N. et al. (2021) 'A selective antibiotic for Lyme disease', *Cell*. Elsevier Inc., 184(21), pp. 5405-5418.e16. doi: 10.1016/j.cell.2021.09.011.
- Liasari, Y. and Wahyudi, M. (2014) Mutasi *Enterobacter ludwigii* untuk Produksi Biohidrogen melalui Penghambatan Jalur Pembentukan Asam.
- Lindström, ES, Kamst-Van Agterveld, MP, and Zwart, G. (2005). Distribution of typical freshwater bacterial groups is associated with pH, temperature, and lake water retention time. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 8201–8206.
- Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A.V., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., Reeves, P.R., Knirel, Y.A., Wang, L. and Widmalm, G., 2020. Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. *FEMS microbiology reviews*, 44(6), 655-683.

- Liu, D. (2015). *Brucella*. Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/brucella> (Accessed: September 3, 2023)
- Lowy, F. (1884). *Bacterial Classification, Structure and Function*. Columbia University.
- Ma, J., Feng, J., Shan, Y., Zhao, Y., Qiao, H., Xie, L., ... & Chuai, X. (2020). Characteristic antimicrobial resistance of clinically isolated *Stenotrophomonas maltophilia* CYZ via complete genome sequence. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 23, 186-193.
- Maarif Rukmana, R. (2019) 'Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp dan *Serratia* sp Pada Eksoskeleton Lalat Hijau (*Chrysomya megacephala*)', *Biomedika*, 12(1), pp. 9–18. doi: 10.31001/BIOMEDIKA.V12I1.417.
- Madigan, M. T., & Jung, D. O. (2009). An Overview of Purple Bacteria: Systematics, Physiology, and Habitats. In C. N. Hunter, F. Daldal, M. C. Thurnauer, & J. T. Beatty (Eds.), *The Purple Phototrophic Bacteria*, 28, 1–15. Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8815-5_1
- Madigan, M., Bender, K., Buckley, D., Sattley, W., & Stahl, D. (2019). *Brock Biology of Microorganisms*, Global Edition. 15th ed. UK: Pearson Education.
- Madigan, M., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M., & Stahl, D.A. (2022). *Brock Biology of Microorganisms*, Global Edition 16th Edition. Pearson, London, UK.
- Mahdavinia, M., & Schleimer, R. P. (2022). Microbiology. In *Chronic Rhinosinusitis: the Mucosal Concept*. https://doi.org/10.1007/978-981-16-0784-4_13
- Maksum Radji. 2009. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Martins, V. G. P. et al. (2022) 'Vibriosis and its impact on microbiological food safety', *Food Science and Technology (Brazil)*, 42. doi: 10.1590/fst.65321.

- Martiny, JBH, Bohannan, BJM, Brown, JH, et al. (2006). Microbial biogeography: Putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology* 4: 102–112.
- McNulty, C. A. M. et al. (1989) 'New spiral bacterium in the gastric mucosa: *Gastrospirillum hominis*', *Journal of Clinical Pathology*, 42(3), pp. 585–591. doi: 10.1136/jcp.43.3.262-b.
- Memish, Z. A., Shibl, A. M., Kambal, A. M., Ohaly, Y. A., Ishaq, A., & Livermore, D. M. (2012). Antimicrobial resistance among non-fermenting Gram-negative bacteria in Saudi Arabia. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 67(7), 1701-1705.
- Mignot, T., & Shaevitz, J. W. (2008). Active and passive mechanisms of intracellular transport and localization in bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, 11(6), 580–585. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.10.005>
- Mohammed, H. et al. (2011) 'LEPTOSPIRA: Morphology, Classification and Pathogenesis', *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 02(06). doi: 10.4172/2155-9597.1000120.
- MOKHTAR, N. A. et al. (2019) 'Helicobacter pylori Infection: Prevalence, Demographic Characteristics, Clarithromycin Resistance and Evaluation of the In-House Rapid Urease Test in Sungai Buloh Hospital, Malaysia', *Sains Malaysiana*, 48(12), pp. 2675–2682.
- Möller, M. N., Cuevasanta, E., Orrico, F., Lopez, A. C., Thomson, L., & Denicola, A. (2019). Diffusion and Transport of Reactive Species Across Cell Membranes. In A. Trostchansky & H. Rubbo (Eds.), *Bioactive Lipids in Health and Disease*, 1127, 3–19. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11488-6_1
- Motyka, A., Zoledowska, S., Sledz, W., & Lojkowska, E. (2017). Molecular methods as tools to control plant diseases caused by *Dickeya* and *Pectobacterium* spp: A minireview. *New biotechnology*, 39, 181-189.
- Mulec, I., Stefanic, P., & Elsas, J. (2015). Ecology of Bacillaceae. *Microbiology Spectrum*, 1-24. Available at: Ecology of Bacillaceae - PubMed (nih.gov) (Accessed: August 27, 2023)
- Muna, F. and Khariri, K. (2020) 'Bakteri patogen penyebab foodborne disease', in *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, pp. 74–79.

- Nani Cahyanti, A. et al. (2021) 'Pemanfaatan Kultur Biakan Murni Bakteri Asam Laktat Genus (*L. Plantarum*) Pada Fermentasi Rebung di Sentra Pengolahan Rebung di Girikusumo Mranggen Demak', *JPPM (Jurnal Pengabdian dan Pemberdayaan Masyarakat)*, 5(2), pp. 217–221. doi: 10.30595/JPPM.V5I2.6852.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2004). *Lehninger—Principles of Biochemistry*, 4th ed. W. H. Freeman.
- Noor (2008) 'Kajian Pengaruh Peningkatan pH Tanah Podsolik Merah Kuning Atas Pengambilan Fosfor dari Batuan Fosfat oleh Padi Gogo (*Oryza sativa* L.)', *Jurnal Tanah Tropika*, 13 (1), pp. 49–58.
- Norman-McKay, L. (2019) *Microbiology: Basic and Clinical Principles*. New York: Pearson.
- Nurhayati, B., Darmawati, S. 2017. *Biologi Sel dan Molekuler*. PPSDMK Kemenkes RI: Jakarta.
- Oren, A., & Garrity, G. M. (2021). Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 71(10), 005056.
- Panchangam, S. C., (2015). *Escherichia Coli*. Available at: https://www.researchgate.net/publication/282070990_Escherichia_Coli/related_Escherichia_Coli (researchgate.net) DOI: 10.13140/RG.2.1.5159.9846
- Parker, N., et all. (2017). *Microbiology*. Texas: ASM Press Openstax.
- Paul A. Granato Verna Morton, J.A.M. (2019) *Laboratory manual and workbook in microbiology : applications to patient care*. Twelfth Ed. New York: McGraw-Hill Education.
- Peeling, R. W. et al. (2017) 'Primer: Syphilis', *Nature Reviews Disease Primers*, 3(17073), pp. 1–21. doi: 10.1038/nrdp.2017.73.
- Pernthaler, J and Amann, R. (2005). Fate of heterotrophic microbes in pelagic habitats: Focus on populations. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 69: 440–461.
- Pommerville, J. (2011) *Alcamo's Fundamentals of Microbiology*. 9th Editio. Jones and Bartlett Publishers.

- Popa, G. L., & Papa, M. I. (2021). Salmonella spp. infection-a continuous threat worldwide. *Germes*, 11(1), 88.
- Pratiwi, Rina Hidayati. (2015)"Distribusi Bakteri Coliform di SITU Cilodong Depok Jawa Barat." *Faktor Exacta* 6.4: 290-297.
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Prescott, L.M., Harley, J.P. & Klein, D.A. (2002). *Microbiology*. 5th ed. McGraw Hill Companies.
- Pujiati. (2015). *Buku Ajar Mikrobiologi Umum*. Madiun: IKIP PGRI Madiun.
- Purves, W. K., Sadava, D. E., Orians, G. H., & Heller, H. C. (2003). *Life: The Science of Biology*, 7th Edition. Sinauer Associates and W. H. Freeman.
- Putra, Sorensen Febrian, Rahmadhani Fitri, and Muhyiatul Fadilah. (2021) "Pembuatan Media Tumbuh Bakteri Berbasis Lokal Material." *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. Vol. 1. No. 2..
- Qiao, Y., Xu, Y., Liu, X., Zheng, Y., Li, B., Han, Y., ... & Wu, S. (2022). Microwave assisted antibacterial action of Garcinia nanoparticles on Gram-negative bacteria. *Nature Communications*, 13(1), 2461.
- Rahn, O. 1937. New principles for the classification of bac- teria. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. II*. 96: 273–286.
- Rao (2007) 'Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Edisi Kedua', edisi II.
- Raphael, E. and Riley, L. W. (2017) 'Infections Caused by Antimicrobial Drug-Resistant Saprophytic Gram-Negative Bacteria in the Environment', *Frontiers in medicine*, 4, p. 183.
- Rashid, N., Onwusogh, U., & Mackey, H. R. (2022). Exploring the metabolic features of purple non-sulfur bacteria for waste carbon utilization and single-cell protein synthesis. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03273-8>
- Respati, Ningtyas Yuniar, Evy Yulianti, and Anna Rahmawati. (2017) "Optimasi suhu dan pH media pertumbuhan bakteri pelarut fosfat dari isolat bakteri termofilik." *Kingdom (The Journal of Biological Studies)* 6.7: 423-430.

- Reynolds, B.H. and P., E. and A. (2012) *Basic Clinical Laboratory Techniques*. Sixth edit. New York: Delmard Cengage Learning.
- Reynolds, D., & Kollef, M. (2021). The epidemiology and pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: an update. *Drugs*, 81(18), 2117-2131.
- Rifai, K. R. (2021) 'Uji Indole sebagai Kegiatan Penjaminan Mutu Tambahan pada Hasil Pengujian Coliform dalam Sampel Air Mineral', *Jurnal Teknologi Proses dan Inovasi Industri*, 6(1), pp. 1–6.
- Rini, C S dan Rohmah, J. (2020). *Buku Ajar Bakteriologi Dasar*. Penerbit UMSIDA Press. Halaman 25 -30. Sidoarjo. ISBN : 978-623-6833-66-7.
- Rizki, A. S. (2017) PERBEDAAN UJI KEPEKAAN *Pseudomonas aeruginosa* PADA MEDIA Mueller Hinton Agar DENGAN Nutrient Agar MENGGUNAKAN Gentamicin, Ciprofloxacin, Ofloxacin. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Saha, R., Saha, N., Donofrio, R. S., & Bestervelt, L. L. (2013). Microbial siderophores: A mini review: Microbial Siderophores. *Journal of Basic Microbiology*, 53(4), 303–317. <https://doi.org/10.1002/jobm.201100552>
- Santos Júnior, V. D., Nizoli, É., Galvan, D., Gomes, R. J., Biz, G., Ressutte, J. B., Rocha, T. D. S., & Spinosa, W. A. (2022). Micronutrient requirements and effects on cellular growth of acetic acid bacteria involved in vinegar production. *Food Science and Technology*, 42, e05121. <https://doi.org/10.1590/fst.05121>
- Satish Gupte (2010) *The Short Textbook of Medical Microbiology*. Tenth edit, Kathmandu University Medical Journal. Tenth edit. New Delhi: Mrs Jyotsna Gupte All. Available at: <https://doi.org/10.3126/kumj.v8i2.3579>.
- Schulz, H. N. (2006). The Genus *Thiomargarita*. *Prokaryotes*, 6, 1156–1163. doi: 10.1007/0-387-30746-x_47.
- Scognamiglio, V., Giardi, M. T. and Zappi, D. (2021) 'Photoautotrophs–Bacteria Co-Cultures: Advances, Challenges and Applications', *Materials*, 14(11), p. 3027.
- Sears, B.W. ;Spea. L.S.R. (2011) *Intisari Mikrobiologi & Imunologi*. Edited by L. Santi. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Sembiring, Albert, and Natalia Lusianingsih Sumanto. (2021). "Isolasi bakteri penghasil asam indol asetat (AIA) dan pengaruhnya terhadap viabilitas benih cabai merah." *Jurnal AGROTEK UMMAT* Vol 8.1
- Seničar, M., Lafite, P., Eliseeva, S.V., Petoud, S., Landemarre, L., & Daniellou, R. (2020). Galactofuranose-related enzymes: Challenges and hopes. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10). doi: 10.3390/ijms21103465.
- Sheh, A. and Fox, J. G. (2013) 'The role of the gastrointestinal microbiome in *Helicobacter pylori* pathogenesis', *Gut Microbes*, 4(6). doi: 10.4161/gmic.26205.
- Shen, Y., Xu, L., & Li, Y. (2021). Biosensors for rapid detection of *Salmonella* in food: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 149-197.
- Siti Boedina Kresno (2013) *IMUNOLOGI Diagnosis dan Prosedur Laboratorium kelima*. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- Sklavounos, A. A., Nemr, C. R., Kelley, S. O., & Wheeler, A. R. (2021). Bacterial classification and antibiotic susceptibility testing on an integrated microfluidic platform. *Lab on a Chip*, 21(21). <https://doi.org/10.1039/d1lc00609f>
- Soelaeman (2008) 'Efektivitas Pupuk Kandang Dalam Meningkatkan Ketersediaan Fosfat, Pertumbuhan dan Hasil Padi dan Jagung pada Lahan Kering Masam', *Jurnal Tanah Tropika*, 13 (1), pp. 41–47.
- Spangler, B., Dovala, D., Sawyer, W. S., Thompson, K. V., Six, D. A., Reck, F., & Feng, B. Y. (2018). Molecular Probes for the Determination of Subcellular Compound Exposure Profiles in Gram-Negative Bacteria. *ACS infectious diseases*, 4(9), 1355-1367.
- Steven, L., & Williams, D. (2014). *Shigella*. Available at: <https://www.sciencedirect.com//topics/agricultural-and-biological-science/shigella> (Accessed: August 27, 2023)
- Stewart, O. A., Wu, F. and Chen, Y. (2020) 'The role of gastric microbiota in gastric cancer', *Gut Microbes*. Taylor & Francis, 11(5), pp. 1220–1230. doi: 10.1080/19490976.2020.1762520.
- Surjawidjaja, J. E. et al. (2007) 'Perbandingan agar MacConkey, *Salmonella-Shigella*, dan xylose lysine deoxycholate untuk isolasi *Shigella* dari usap

- dubur penderita diare', *Universa Medicina*, 26(2), pp. 57–63. doi: 10.18051/UNIVMED.2007.V26.57-63.
- Susi, K. : et al. (2017) 'Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), pp. 50–56. doi: 10.15416/IJPST.V4I2.13112.
- Sutanto (2002) *Penerapan Pertanian Organik Pemasarakatan dan Pengembangannya*, Kanisius.
- Syahrurachman, A., dkk. (1994). *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara Publisher.
- Syarifah, I. (2015) 'Deteksi *Salmonella* sp pada Daging Sapi dan Ayam', *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, 0(0), pp. 675–680. doi: 10.14334/PROS.SEMNAS.TPV-2015-P.675-680.
- Tadesse, A., & Alem, M. (2006). *Medical Bacteriology. Lecture Notes Degree and Diploma Programs For Environmental Health Students*.
- Talaro, K. P. & Chess, B. (2012). *Foundation in Microbiology* 8th ed. 8th ed. New York: McGraw Hill.
- Tisdale (1985) 'Soil Fertility and Fertilizers', *Macmillan Publishing*, pp. 189–569.
- Tortora, G.J., Funke, B.R. & Case, C.L. (2013). *Microbiology: An introduction*. 11 ed. USA: Pearson Education. doi: 10.1016/0167-7799(83)90064-1.
- Toth, I. K. (2022). *Microbe profile: Pectobacterium atrosepticum: an enemy at the door*. *Microbiology*, 168(8), 001221.
- Tri Nanda, P., Anggraini Siregar, S. and Kurniawan, R. (2017) 'Isolasi, Karakterisasi dan Uji Potensi Bakteri Penghasil Enzim Termotabil Air Panas Kerinci', *CHEMPUBLISH JOURNAL*, 2(1), pp. 26–31. Available at: <https://mail.online-journal.unja.ac.id/chp/article/view/3238> (Accessed: 11 September 2023).
- Trivedi , P. C., Pandey, S., Bhadauria, S., (2010). *Text Book of Microbiology*. India: Aavishkar Publishers.

- Tubuh, I.W.D.A., Budayanti, N.N.S., Fatmawati, N.N.D. 2019. Karakteristik pasien dengan infeksi *Burkholderia cepacia* di RSUP Sanglah pada tahun 2014-2016. *Intisari Sains Medis*, 10(1).
- Vermaas, W. F. (2001). *Photosynthesis and Respiration in Cyanobacteria*. In John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), *ELS* (1st ed.). Wiley. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0001670>
- Vidyalakshmi, R., Paranthaman, R., & Bhagyaraj, R. (2009). Sulphur Oxidizing Bacteria and Pulse Nutrition—A Review. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(3), 270-278.
- Volk, W. A., & Wheeler, M. F. (1988). *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Erlangga.
- Wahyuni, E. and Wahyuni, E. A. (2017) 'Karakteristik pH dan pengaruhnya terhadap bakteri Coliform di perairan Selat Madura Kabupaten Pamekasan', *Depik*, 6(3), pp. 214–220. doi: 10.13170/depik.6.3.5875.
- Wahyuningsih, Nitra, and Enny Zulaika. (2019)"Perbandingan pertumbuhan bakteri selulolitik pada media nutrient broth dan carboxy methyl cellulose." *Jurnal sains dan Seni ITS* 7.2: 36-38.
- Wang, M., Qazi, I. H., Wang, L., Zhou, G., & Han, H. (2020). *Salmonella* virulence and immune escape. *Microorganisms*, 8(3), 407.
- Wardhani, Adeline Kusuma, Jacob LA Uktolseja, and D. Djohan. (2020) "Identifikasi Morfologi dan Pertumbuhan Bakteri pada Cairan Terfermentasi Silase Pakan Ikan." *Prosiding SNPBS (Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek) Ke-5*,.
- Warganegara, E. and Tantri, B. U. N. (2016) 'Pengaruh Infeksi *Helicobacter pylori* pada Gaster terhadap Anemia Pernisiosa', *Majority*, 5(3), pp. 33–37.
- Wellinghausen, N. (2015). *Listeria and Erysipelothrix*. Available at Willey Online Library: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1128/9781555817381.ch27> (Accessed: August 27, 2023)
- Whiteway, C., Breine, A., Philippe, C., & Van der Henst, C. (2022). *Acinetobacter baumannii*. *Trends in microbiology*, 30(2), 199-200.
- Whitman, William B. et all (2010). *BERGEY'S MANUAL OF Systematic Bacteriology*. Second Edition. ISBN: 978-0-387-95042-6 e-ISBN: 978-

- 0-387-68572-4 DOI: 10.1007/978-0-387-68572-4 Springer New York Dordrecht Heidelberg London
- WHO. (2018). E. coli. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> (Accessed: August 27, 2023)
- WHO. (2018). Salmonella (non-typhoidal). Available at: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)) (Accessed: August 27, 2023)
- Widawati (2010) 'No Pengaruh Kompos yang Diperkaya Bakteri Penambat Nitrogen dan Pelarut Fosfat Terhadap Pertumbuhan Tanaman Kapri dan Aktivitas Enzim Fosfatase dalam Tanah', *J. Hort*, 20 (3), pp. 207–215.
- Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(12), 4576–4579.
- Wong, M. Y., Tseng, Y. H., Huang, T. Y., Lin, B. S., Tung, C. W., Chu, C., & Huang, Y. K. (2020). Comparison of microbiological characteristics and genetic diversity between *Burkholderia cepacia* complex isolates from vascular access and other clinical infections. *Microorganisms*, 9(1), 51.
- Yannarell, AC and Triplett, EW. (2005). Geographic and environmental sources of variation in lake bacterial community composition. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 214–223.
- Young, K. D. (2007). Bacterial morphology: why have different shapes? In *Current Opinion in Microbiology* (Vol. 10, Issue 6). <https://doi.org/10.1016/j.mib.2007.09.009>
- Yuniarti (2009b) 'Pengaruh Mikroorganisme Pelarut Fosfat dan Pupuk P terhadap P Tersedia, Aktivitas Fosfatase, Populasi Mikroorganisme Pelarut Fosfat, Konsentrasi P Tanaman dan Hasil Padi Gogo (*Oryza Sativa*. L.) pada Ultisols', *Jurnal Agrikultura*, 20(3), pp. 210–215.
- Yusni, E. (2017) *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Akuatik*. Medan: Repository USU.
- Yuwono, T. (2005) *Biologi Molekular*. Jakarta: Penerbit Erlangga.

Biodata Penulis



Melda Yunita, S.Si., M.Si lahir di Pekanbaru, 04 Juni 1990, merupakan istri dari Morgan Ohiwal S.P., M.Si. Ia tercatat sebagai lulusan Biologi FMIPA di Universitas Riau dan magister Mikrobiologi di Institut Pertanian Bogor. Wanita yang kerap disapa Imel ini merupakan seorang dosen tetap di Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura dan freelance sebagai Translator atau penerjemah manuskrip. Ia memiliki hobi menulis dan aktif dalam mempublikasikan hasil penelitian dan pengabdian

masyarakat, baik di Jurnal Internasional Bereputasi maupun di Jurnal Nasional Terakreditasi Kemenristekdikti. Sebanyak 13 artikel berhasil dipublikasikannya pada tahun 2022. Salah satu hasil penelitiannya yang berjudul, "Endophytic Bacteria Associated with *Myristica fragrans* Houtt: Total Population, Preliminary Characterization, and Potential as Antibacterial" telah dipublikasi di jurnal terindeks Scopus Q3 Biodiversitas Journal of Biological Diversity.



IPDA dr. Deasy Handayani Purba dilahirkan di Medan, Sumatera Utara pada tanggal 9 Desember 1992, merupakan anak ke enam dari sembilan bersaudara, buah hati dari Bapak Dr. Bonaraja Purba, M.Si dan Ibu Romlah Sinaga, S.Pd (†).

Riwayat pendidikan penulis dimulai dari SD Sutomo 1 Medan (1999), SMP Sutomo 1 Medan (2005), SMA Sutomo 1 Medan (2008), dan Fakultas Kedokteran USU (2011).

Semasa kuliah, penulis aktif berorganisasi dan sering mengikuti berbagai kegiatan dan perlombaan ilmiah Fakultas Kedokteran se-Indonesia, seperti di Universitas Hasanuddin (Makassar), Universitas Gadjah Mada (Yogyakarta), Universitas Padjadjaran (Bandung), Universitas Udayana (Bali), dan

Universitas Lambung Mangkurat (Banjarmasin). Penulis juga merupakan peserta Program Pertukaran Mahasiswa di Negara Filipina (2014) dan Wakil 1 Duta Bahasa Provinsi Sumatera Utara (2015).

Setelah menjadi seorang dokter, penulis terpanggil untuk mengabdikan ke pelosok Indonesia melalui Program Ekspedisi Nusantara Jaya Kemenko Kemaritiman di Pulau Pari, Kepulauan Seribu (2017), Program Internship Kementerian Kesehatan di Sumbawa Barat, Nusa Tenggara Barat (2018), dan Program Nusantara Sehat Tim Kementerian Kesehatan di Bualemo, Sulawesi Tengah (2019-2021).

Saat ini, sembari mengemban amanah sebagai seorang Kasidokkes di Polres Tapanuli Utara, penulis juga aktif menulis buku. Per tanggal buku ini diterbitkan, sudah ada 27 buku referensi dan 1 buku Antologi Nusantara Sehat yang ditulis dan diterbitkan. Beberapa diantaranya adalah Ilmu Kesehatan Anak (2020), Infeksi Menular Seksual dan HIV/AIDS (2021), dan Ilmu Gizi (2022).



Fathin Hamida. Menyelesaikan pendidikan S1 di Program studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Dan menyelesaikan pendidikan S2 di program studi Mikrobiologi Fakultas MIPA IPB University. Ia adalah dosen tetap Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional di Jakarta.

Mengampu mata kuliah Biologi Sel, Mikrobiologi dan Virologi, Parasitologi, Mikrobiologi Pangan, Botani Farmasi, dan Farmakognosi. Selain aktif mengajar dan menulis buku teks, penulis juga terlibat sebagai reviewer di beberapa jurnal. Penulis juga aktif sebagai reviewer ahli materi buku teks sekolah bidang IPA/biologi di lingkungan PUSKURBUK KEMDIKBUD.

E-mail: fathinfarmasi@istn.ac.id



Vilya Syafriana. Saat ini sedang menyelesaikan Program Doktor Biologi, FMIPA UI dengan topik disertasi tentang pemanfaatan tanaman sebagai agen antimikrob berbasis metabolomik. Penulis sebelumnya mengikuti Program S1 dan S2 di UI Depok. Ia adalah dosen tetap Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta.

Mengampu mata kuliah Mikrobiologi & Virologi, Parasitologi, Bioteknologi Farmasi, Biologi Sel, Botani Farmasi, dan Farmakognosi. Selama ini terlibat aktif sebagai dosen pembimbing mahasiswa Aktivitas Antimikrob, Resistensi Antibiotik, Etnobotani, Pemanfaatan Tanaman Herbal dalam Bidang Kesehatan, serta Pengetahuan Masyarakat terkait Kesehatan dan Penyakit Infeksi.

Telah menulis sebanyak 40 artikel jurnal, baik di Jurnal Nasional maupun Internasional Bereputasi. Aktif sebagai Manajer Jurnal pada jurnal nasional Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian.

E-mail: v.syafriana@istn.ac.id



Liza Mutia, lahir di Perbaungan pada tanggal 10 September 1980, lulus S2 Magister ilmu Biomedik FK USU Medan (Tahun 2018), dan menjadi staf pengajar di DIII Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Medan.

Saat ini sebagai Dosen pengajar pada mata kuliah Biokimia, Parasitologi dan Etika Profesi dan Hukum kesehatan di Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Medan. Sebagai akademisi penulis aktif dalam melaksanakan tri dharma perguruan tinggi yaitu melakukan kegiatan pendidikan (pengajaran), penelitian dan pengabdian masyarakat.

E-mail: liza.mutia1009@gmail.com



Nita Andriani Lubis. Saat ini diamanahkan menjadi ketua jurusan Teknolohgi Laboratorium Medik (TLM) Poltekkes Kemenkes Medan. Lulus Pendidikan Program S1 Biologi (Mikrobiologi) dan S2 Ilmu Biomedik di USU Medan. Ia adalah dosen tetap Jurusan Teknologi Laboratorium Medik (TLM), Poltekkes Kemenkes Medan.

Mengampu mata kuliah Imunoserologi, Mikrobiologi, Biokimia, Biologi Medik, Anatomi Fisiologi, Patofisiologi, dan Metodologi Penelitian. Selama ini terlibat aktif dalam tridarma perguruan tinggi pengajaran-penelitian dan pengabdian kepada masyarakat.

e-mail: nita.andriani.lubsi@gmail.com



David Soputra lahir di Pekanbaru, pada 23 Mei 1962. Anak kelima dari pasangan Adam Soputra dan Hanna yang bekerja di Bank Pembangunan Daerah Riau, Pekanbaru. Ia tercatat sebagai lulusan Universitas Advent Indonesia dengan jurusan Biologi Lingkungan. Ia menamatkan gelar BA di bidang Biologi Lingkungan pada tahun 1985, dan menyelesaikan Sarjana Biologi (S-1) tahun 1990.

Kemudian menyelesaikan gelar sarjana pendidikan Biologi dari Universitas Simalungun di tahun 2010. Pada tahun 2006 hingga 2008 mengikuti program perkuliahan pasca sarjana di Adventist University of the Philippines, Manila, dengan gelar Master of Science in Environmental Biology. Dan saat ini sedang menyelesaikan perkuliahan tingkat doktoral di Sekolah Tinggi Teologia Sumatera Utara dengan konsentrasi di bidang pendidikan. David Soputra telah menikah dengan Lisyé Nanjar, dan telah dikaruniai tiga orang anak, yakni Stella, Ezra, Mita, dan menantu yang bernama Janno dan Ingrid. Dan telah dikaruniai tiga orang cucu yang bernama Jemima, Jason, dan Ezekiel. Saat ini David Soputra bekerja sebagai tenaga dosen di Akademi Keperawatan Surya Nusantara, dan STFT Surya Nusantara.



Abbas Mahmud, lahir di Ujung Pandang, pada 11 Januari 1974. Ia tercatat sebagai lulusan Sarjana Farmasi dan Profesi Apoteker di Universitas Hasanuddin (UNHAS), Magister (S2) di bidang Biomedik – Mikrobiologi juga dari Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Pria yang kerap disapa Abbas ini adalah anak dari pasangan H. Mahmud (ayah) dan Hj. Hasnah (ibu). Abbas Mahmud bekerja sebagai Dosen di Jurusan Kebidanan Poltekkes Kemenkes Mamuju sejak 2012. Email: abbas.mahmud11@gmail.com



Mazytha Kinanti Rachmania was born in Jakarta, June 30th, 1995. The author achieved her Bachelor of Science in 2017 (Sarjana Sains, S.Si.) in the microbiology area (isolation and identification of moulds from deteriorated old manuscripts) at the Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Indonesia. In 2018 - 2022, the author received Pendidikan Magister menuju Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU) scholarship from the Ministry of Research,

Technology, and Higher Education of the Republic of Indonesia to continue the postgraduate study (master and doctoral programs) in Department of Biology, Universitas Indonesia. In 2019, the author received her Magister Sains (M.Si) degree with a research project to investigate the xylan-degrading ability and characterization of potential thermophilic Actinobacteria from soil in Cisolok Geothermal Area, West Java. The author continued her doctoral study in February 2020 with the research topic of taxonomy and diversity of the class Ktedonobacteria from the soil of Cisolok geothermal area for her dissertation and received her Doctoral degree in 2023.

Email address: mazytha.kinanti81@ui.ac.id; mazytha.kinanti81@gmail.com



Cory Linda Putri Harahap, Adalah putri pertama dari Bapak Muhammad Abidin Harahap dan Ibu Masdewi Hasibuan. Sebelumnya mengikuti Pendidikan Program Sarjana Farmasi (S1) dan Magister Farmasi (S2) di Universitas Sumatera Utara (USU) Medan. Saat ini adalah Dosen Tetap Program Studi Farmasi Universitas Aufa Royhan Kota Padangsidempuan. Mengampu mata kuliah Farmakologi, Toksikologi, Farmasetika. Selama ini terlibat aktif sebagai pengurus di Ikatan Apoteker Indonesia Pengurus Cabang Tapanuli Selatan.

E-mail: cory.hrp20@gmail.com



Desy Muliana Wenas. Saat ini sedang menjalani Program Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia dengan topik disertasi yakni tentang Antiaging dari bahan alam. Sebelumnya mengikuti Pendidikan Program S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan S2 Herbal Estetik Fakultas Farmasi di Universitas Indonesia. Ia adalah dosen tetap Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.

Mengampu mata kuliah Botani Farmasi, Fitokimia, Mikrobiologi dan Parasitologi. Selama ini terlibat aktif sebagai dosen pembimbing mahasiswa dalam penelitian bidang dengan luaran publikasi jurnal Nasional Bereputasi dan jurnal Internasional berindeks Scopus.

Telah menulis 2 Buku referensi yakni Ilmu Gizi dan Diet serta Farmakologi Sosial dan Pengelolaan Obat, Penerbit Kita Menulis.

E-mail: desywenas@istn.ac.id



Chandra Pranata Lahir di Kota Lama, 12 Agustus 1997. Ia tercatat sebagai lulusan Universitas Sumatera (USU), Medan. Pria yang kerap disapa Cha ini adalah anak dari pasangan Syamsudin (ayah) dan Jariah (ibu). Chandra merupakan dosen tetap pada program studi sarjana farmasi INKes Medistra Lubuk Pakam. Riwayat pendidikan terakhir adalah S2 Farmasi USU dan saat ini sedang lanjut program Doktor ilmu farmasi USU.

E-mail: ccandraprnt@gmail.com



Arviani. Saat ini adalah dosen di Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo. Penulis menyelesaikan Pendidikan S1 di jurusan Kimia Universitas Tadulako dan S2 pada Kelompok Keahlian Kimia Organik di Program Studi Kimia Institut Teknologi Bandung. Bidang yang peneltitan yang ditekuni merupakan kimia Organik Bahan Alam yang membahas mengenai struktur senyawa yang diisolasi dari bahan alam dan aktivitasnya.

Mengampu mata kuliah Kimia Organik, Kimia Organik Sintesis, Kimia Organik Bahan Alam, Elusidasi Struktur. Terlibat aktif dan penelitian mengenai eksplorasi aktivitas tanaman obat dan aktivitasnya sebagai antibakteri, antioksidan, antihiperurisemia dan potensi tanaman sebagai antidiabetes,

Penulis memiliki beberapa penelitian dan pengabdian masyarakat yang diterbitkan di jurnal nasional terakreditasi.

E-mail: arviani@ung.ac.id, arviani.ardillah@gmail.com



Nancy Lidya Sampouw. Lulusan Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter dari Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado Sulawesi Utara. Lulusan Magister Kesehatan Masyarakat dari Program Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi Manado Sulawesi Utara. Saat ini sebagai dosen di Fakultas Keperawatan Universitas Klabat Airmadidi Minahasa Utara, Sulawesi Utara.

Mengampu mata kuliah Ilmu Dasar Keperawatan I (mata kuliah yang merupakan bagian dari kelompok ilmu alam dasar yang membahas tentang konsep biologi, fisika, biokimia, gizi dengan memperhatikan lingkungan dan etika keilmuan, serta konsep-konsep anatomi dan fisiologi manusia dalam mempertahankan homeostasis tubuh), dan Ilmu Dasar Keperawatan II (mata kuliah yang membahas tentang konsep patologi, patofisiologi, mikrobiologi dan parasitologi, serta farmakologi pada berbagai kondisi sebagai landasan dalam mempelajari ilmu-ilmu lanjutan atau keahlian).

E-mail: nancy.sampouw@unklab.ac.id

Bakteriologi

Mikroorganisme, khususnya bakteri, merupakan hal yang penting untuk dipelajari. Buku ini menyajikan berbagai topik mengenai bakteri, sehingga secara tidak langsung pembaca dapat memahami bagaimana karakteristik bakteri secara lengkap. Buku ini diharapkan dapat dijadikan sebagai referensi dalam upaya memahami bakteri sebagai model dan keterkaitannya dalam berbagai bidang mikrobiologi terapan yang terkait.

Buku Bakteriologi memuat beberapa bab penting sebagai berikut:

Bab 1 Klasifikasi Bakteri

Bab 2 Distribusi Dan Peran Bakteri

Bab 3 Morfologi Bakteri

Bab 4 Nutrisi Bakteri

Bab 5 Pertumbuhan Dan Perkembangan Bakteri

Bab 6 Metabolisme Bakteri

Bab 7 Nutrisi Dan Kultivasi Bakteri

Bab 8 Isolasi Dan Identifikasi Bakteri

Bab 9 Karakterisasi Enterobacteriaceae

Bab 10 Bakteri Kokus

Bab 11 Bakteri Spiral

Bab 12 Bakteri Penambat Nitrogen

Bab 13 Bakteri Gram Negatif Dan Non Fermentative

Bab 14 Bakteri Batang (Basil)



YAYASAN KITA MENULIS
press@kitamenulis.id
www.kitamenulis.id

ISBN 978-623-342-945-8



9 786233 429658