

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Umum Tentang Karies Gigi**

##### **1. Pengertian**

Karies gigi merupakan suatu penyakit pada jaringan gigi atau biasa dikenal dengan email, dentin dan sumbu. Email gigi yang mengalami demineralisasi membuat lapisan dentin terekspos. Dentin yang terekspos akan membuat saluran kedalam pulpa menjadi sensitif sehingga rasa panas atau dingin dapat merangsang syaraf dan mengakibatkan rasa nyeri. Karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang dapat terjadi pada orang dewasa dan anak – anak. Akan tetapi yang paling rentan terkena adalah anak – anak umur 5 – 9 tahun. Karies biasanya disebabkan oleh aktifitas metabolisme plak bakteri, jika penderita karies gigi terus mengonsumsi makanan yang mengandung glukosa maka plak bakteri akan terus bertambah sehingga dapat menyebabkan karies gigi (Wende, 2019).

Karies juga merupakan infeksi jaringan yang terjadi akibat faktor penyebab yaitu interaksi antara substansi gigi dengan mikroorganisme serta mengonsumsi karbohidrat yang berlebihan mengandung asam sehingga bakteri berkoloni pada permukaan gigi. Rusaknya jaringan karies gigi yang disebabkan oleh asam dalam karbohidrat melalui prantara dalam saliva (Simbiring, 2020).

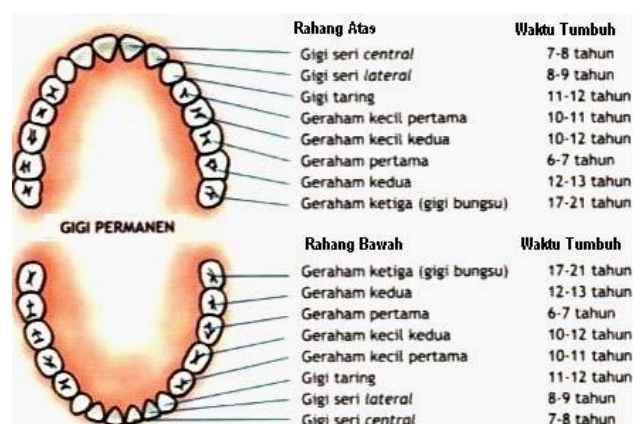


**Gambar 1.** Karies Gigi  
(Sumber : Arysespajayadj, 2019)

## 2. Fisiologi dan Anatomi Gigi Pada Anak

Secara fisiologis pertumbuhan gigi pada anak di usia 6 -7 bulan dan akan tumbuh lengkap pada usia 2 - 5 tahun. Gigi ini masih disebut gigi susu yang terdiri dari delapan gigi geraham (*molera*), delapan gigi seri (*insisivus*) dan empat gigi taring (*caninus*). Pada usia 6 – 9 tahun mulai diganti dengan gigi permanen yang berjumlah 32 buah gigi, dimana usia tersebut lebih rentang terkena karies gigi, karena jumlah gigi permanen dan gigi sulung di dalam rongga mulut hampir sama yang diantaranya dapat menyebabkan karies gigi (Sri astari, 2019).

Umumnya struktur gigi terdiri dari email, pulpan, dentim, dan sumentum. Ukuran gigi pada seorang anak memiliki ukuran yang sangat kecil, gigi email yang berwarna putih dan mengandung lebih banyak bahan organik dibandingkan dengan mineral yang memudahkan suatu mikroorganisme menginfeksi lapisan. Dentim adalah lapisan setelah email yang terdiri dari beberapa sel keras dan memiliki lubang yang berukuran mikroskopis. Selain itu pulpan juga merupakan bagian yang lembut, yang berisi pembuluh darah dan syaraf. Kemudian sementum merupakan suatu struktur yang menghubungkan akar gigi ke gusi dan tenggorokan. Struktur yang ada pada jaringan gigi anak masih dalam proses perkembangan. Masa perkembangan sel memiliki kemampuan regenerasi yang baik dan kerusakan pada gigi cenderung lebih cepat diperbaiki (Juniawati, 2018).



**Gambar 2.** Struktur Gigi  
(Sumber : Juliansyah, 2019)

### 3. Etiologi Karies Gigi

Karies gigi adalah interaksi dari hasil flora mulut kariogenik (biofilm) dimana karbohidrat yang difermentasikan ke permukaan gigi (host). Karies juga penyakit ekologis dimana makanan dan flora mikroba berinteraksi dengan meningkatkan demineralisasi struktur gigi sehingga terjadinya karies gigi yang melibatkan berapa faktor yang tidak berdiri sendiri tetapi bekerja sama. Namun aktivitas karies jauh lebih komplemen karena tidak semua disebabkan oleh kariogenik biofilm, host, dan karbohidrat yang menyebabkan karies gigi. Hal ini akan menurunkan pH menjadi kritis dalam waktu 1 – 3 menit yang menyebabkan demineralisasi email akan berlanjut menjadi karies gigi. Penurunan pH secara berulang – ulang akan mengakibatkan permukaan gigi rentan terkena demineralisasi pada permukaan gigi (Juliani, 2020).

### 4. Jenis – Jenis Karies

Pada umumnya karies gigi atau tempat terjadinya suatu karies, dapat dibedakan menjadi beberapa jenis. Berdasarkan stadium, karies gigi merupakan suatu permukaan yang halus atau permukaan tertentu pada gigi. Karies dapat dikelompokkan sesuai lokasinya yang dapat dibedakan oleh beberapa jenis yaitu karies superfisial, karies media dan karies *profunda* (Kembuan, 2020).

- a) Karies superfisial adalah karies yang sedang mencapai bagian dalam email. Sedangkan dentim belum terkena tetapi kadang – kadang terasa nyeri atau sakit.
- b) Karies media adalah karies berat yang mencapai bagian dentim (tulang gigi). Tetapi belum mencapai setengah dari dentim, namun hanya antara permukaan gigi dan pulpan. Gigi sendiri akan tersa sakit bila terkena rangsangan dingin, asam dan manis.
- c) Karies profunda adalah karies yang telah mendekati pulpan sehingga terjadi peradangan pada pulpan. Bila tidak segera diobati maka gigi akan mati, dan untuk perawatan selanjutnya lebih lama dibandingkan pada karies lainnya.

## 5. Faktor Terjadinya Karies Gigi

Proses terjadinya karies gigi adalah dengan adanya plak di permukaan gigi dari sisa makanan sehingga bakteri berproses menempel pada waktu tertentu yang akan menurunkan pH mulut menjadi kritis (5,5) dan akan menyebabkan demineralisasi email menjadi karies gigi. Karies gigi bersifat multifaktorial yang melibatkan faktor yang tidak berdiri sendiri tetapi saling bekerja sama. Ada 5 faktor dalam pembentukan karies gigi yaitu mikroorganisme, agen, substrat, host dan waktu (Juliani, 2020).

### a) Mikroorganisme plak gigi

Mikroorganisme yang biasa diidentifikasi dalam plak karies gigi berbeda – beda. Plak gigi merupakan lapisan lunak terdiri atas mikroorganisme yang berkembang biak di atas matriks terbentuk dan melekat keras di permukaan gigi. Pada awal pembentukan plak kokus gram positif merupakan jenis yang paling sering ditemukan yaitu *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrius*, dan *Lactobacillus Actinomyces* (Kaligis, 2017).

### b) Agen

Agen merupakan faktor etiologi bakteri pada plak gigi dalam hal ini *Streptococcus sp* dianggap sebagai bakteri utama yang menyebabkan karies gigi. Jumlah saliva dan plak gigi dapat terjadi karena berhubungan dengan terjadinya karies. Bakteri ini sering berhasil diisolasi di permukaan gigi atau karies, kemudian metabolisme asam organik dengan cepat, dan mampu mempertahankan terjadinya pH (Rahayu, 2018).

### c) Substrat

Substrat adalah molekul kimia yang berasal dari berbagai makanan yang dikonsumsi sehari – hari kemudian menempel pada gigi. Jenis substrat yaitu gula, dimana jika mengonsumsi makanan yang mengandung gula berlebihan dapat meningkatkan plak dan pertumbuhan mikroorganisme. Proses terjadinya karies yang bersifat local tergantung pada komponennya. Makanan dalam mulut adalah

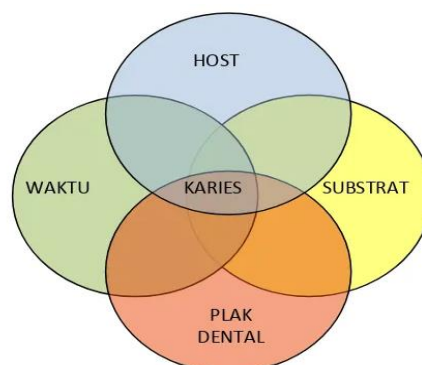
substrat yang difermentasikan bakteri untuk mendapatkan suatu energi, kemudian sukrosa dan glukosa akan terbentuk bakteri yang melekat pada permukaan gigi (Setyaningsih dkk, 2018).

d) Host

Host adalah penyakit karies gigi dimana ukuran bentuk gigi, struktur email, faktor kimia, dan saliva. Morfologi gigi yang berbeda memiliki keluk dan fisur yang bermacam – macam. Karies gigi sering terjadi di permukaan gigi yang spesifik pada gigi sulung maupun gigi permanen. Dimana gigi sulung lebih mudah mengalami karies sedangkan gigi permanen pada put dan fisur. Put dan fisur merupakan bagian permukaan yang memiliki dua struktur yang halus dan kasar (Hanindira, 2020).

e) Waktu Plak Gigi

Waktu plak gigi merupakan kecepatan terbentuknya karies gigi. Umumnya waktu yang dibutuhkan plak gigi untuk berkembang untuk menjadi suatu karies gigi diperkirakan 6 – 48 bulan. Selama berlangsungnya karies kemampuan saliva untuk medepositkan Kembali mineral yang menandakan bahwa karies tersebut terdiri dari saliva dalam lingkungan gigi. Maka karies gigi tidak dapat menghancurkan dalam hitungan hari, minggu melainkan bulan atau tahun. Demikian kesempatan untuk menghentikan penyakit karies (Wirawan dkk, 2017).



**Gambar 3.** Faktor Karies Gigi  
(Sumber : Alfira, 2019)

## 6. Pencegahan Karies Gigi

Pencegahan karies gigi merupakan kebersihan gigi dan mulut dengan menjaga penyakit - penyakit dalam rongga mulut, seperti karies gigi, dan radang gusi. Dimana penyakit tersebut merupakan penyakit yang paling sering ditemukan dalam mulut. Menjaga kebersihan mulut merupakan kebersihan gigi dan mulut yang terpenting dalam mencegah terjadinya karies gigi. Untuk menjaga kebersihan mulut dapat dilakukan dengan cara menyikat gigi secara rutin, kurangi makanan yang manis dan rutin periksa ke dokter gigi (Nugraheni dkk, 2019).

### a) Bersihkan gigi secara teratur

Gigi yang dibersihkan secara rutin dapat mencegah terjadinya plak gigi yang terbentuk menjadi tempat bakteri pembentuk karies gigi. Selain dibersihkan secara menyeluruh dan menyikat gigi sebenarnya hanya 25% dari keseluruhan bagian mulut dan gigi, masih ada pipi, lidah dan jaringan lainya yang bisa berpotensi sebagai tempat tinggal bakteri dalam rongga mulut jika tidak dibersihkan secara teratur (Wahyuni, 2020).

### b) Kurangi makanan manis

Makanan yang manis merupakan sumber makanan bagi bakteri untuk pembentukan lubang gigi atau karies. Dengan mengurangi konsumsi makanan yang manis maka aktivitas bakteri sulit untuk berproses dalam perlubangan. Hal ini juga bisa dilakukan dengan cara berkumur - kumur setelah makan makanan yang manis dengan air putih (Putri dkk, 2017).

### c) Rutin kontrol ke dokter gigi

Kontrol plak adalah cara untuk menghilangkan bakteri pada plak gigi untuk menjaga kebersihan gigi dan mulut. Dengan Memeriksa Kesehatan gigi secara teratur ke dokter gigi, maka bakteri memerlukan waktu untuk melakukan aksinya. Dengan mengotrol per bulan atau lebih dapat mencegah bakteri untuk mengulang prosesnya (Lei dkk, 2019).

## B. Tinjauan Umum Tentang Bakteri *Streptococcus sp*

### 1. Pengertian

Bakteri *Streptococcus sp* adalah bakteri gram positif berbentuk kokus yang tersusun secara berpasangan dan berantai. *Streptococcus sp* merupakan salah satu golongan bakteri yang termasuk heterogen diantaranya merupakan anggota flora normal pada manusia. *Streptococcus sp* bersifat non motil (tidak bergerak) bakteri anaerob fakultatif, yang memiliki bentuk bulat yang tersusun seperti rantai dan tidak membentuk spora. *Streptococcus sp* biasanya memiliki komposisi seperti kapsul yang terdiri polisakarida sub unit struktural glukosa. *Streptococcus sp* adalah bakteri kariogenik mampu menjadi metabolisme karbohidrat dan membuat suasana asam dalam mulut yang mejadi faktor utama karies dikarenakan habitatnya melekat pada dinding gigi bersama plak (Salamah, 2019).

*Streptococcus sp* memiliki kemampuan untuk menempel pada permukaan gigi untuk membentuk plak gigi, memproduksi glukosa dan polisakarida dari karbohidrat terutama sukrosa, dan kemampuan memproduksi asam yang menyebabkan turunya pH pada rongga mulut. *Streptococcus sp* sering ditemukan pada gigi manusia dan menjadi faktor utama pembentukan karies dan menjadi bakteri yang paling kondusif dalam menyebabkan karies pada email gigi. Bakteri yang berperan penting dalam pembentukan plak merupakan bakteri yang mampu membentuk polisakarida ekstraseluler, yaitu bakteri dari genus *Streptococcus sp* (Nugraheni, 2019).

*Streptococcus sp* dalam saliva dapat menurun maupun dan meningkat sesuai dengan pola komsumsi makanan yang mengandung gula berlebihan dan cara merawat kebersihan gigi. Resiko terjadinya karies meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah bakteri *Streptococcus sp* dalam saliva. Proses terjadinya karies disebabkan oleh bakteri yang berperan penting dalam pembentukan plak, salah satunya yaitu *Streptococcus sp*. Bakteri ini mampu membentuk polisakarida ekstraseluler, yaitu bakteri dari genus *Streptococcus* (Lei, 2019).

## 2. Klasifikasi Bakteri *Streptococcus sp*

Berikut ini merupakan klasifikasi dari bakteri *Streptococcus sp* menurut (Afdilla, 2021).

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : *Firmicutes*

Class : *Bacilli*

Ordo : *Lactobacilalles*

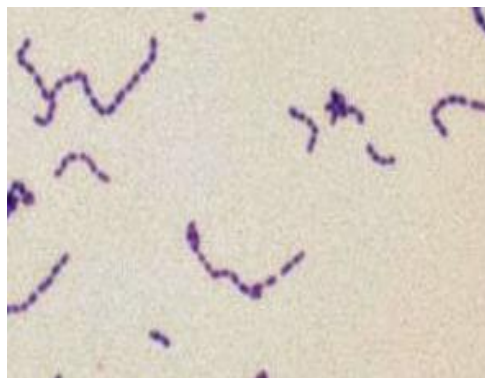
Famili : *Streptococcaceae*

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus pyogenes*

## 3. Morfologi Bakteri *Streptococcus sp*

*Streptococcus sp* merupakan bakteri gram positif, yang berbentuk bulat, tersusun secara berpasangan dengan karakteristik rantai, tidak berspora, dan tidak bergerak. Beberapa spesies mikroorganisme berbentuk kapsul memiliki sifat aerob dan anaerob fakultatif. *Streptococcus sp* tidak tahan asam, panjang rantai bervariasi yaitu pendek berkisar antara 4 - 8 sel, sedangkan Panjang berkisar 20 - 30 sel atau lebih. Dalam beberapa kultur, rantai dibentuk oleh pasang - pasangan sel sehingga ada kemungkinan dasar pengelompokkan adalah *Diplococcus*. Dalam kultur mudah bakteri ini mudah untuk diwarnai. Pertumbuhan *Streptococcus sp* mampu bertahan pada Ph7,4-7,6 pada suhu pertumbuhannya 37°C (Hanifah, 2021).



**Gambar 4.** *Streptococcus sp* pembesaran 1000x  
(Sumber : Nadhira, 2020).



#### 4. Patogenitas *Streptococcus sp*

Patogen merupakan organisme atau mikroorganisme yang menyebabkan penyakit. Kemampuan bakteri untuk menyebabkan penyakit tergantung pada patogenitasnya. *Streptococcus* adalah salah satu bakteri patogen yang dapat masuk pada saliva dan merusak jaringan gigi yang menyebabkan karies. Ada beberapa hal yang dapat menyebabkan terjadinya karies gigi bertambah parah yaitu gula, air liur, dan bakteri pembusuknya. Setelah memakan 10 sesuatu yang mengandung gula, terutama sukrosa dan bahkan setelah beberapa menit menyikat gigi dilakukan, glikoprotein yang melekat dan bertahan pada gigi akan membentuk plak gigi. Waktu bersamaan berjuta – juta bakteri *streptococcus sp* juga bertahan pada glikoprotein itu. Walaupun banyak bakteri lain juga melekat, tetapi hanya bakteri *streptococcus sp* yang dapat menyebabkan lubang pada gigi (Nursidika dkk, 2018).

Plak gigi dapat menghambat asam dan saliva keluar sehingga konsentrasi pada permukaan anamel dapat meningkat. Asam yang melepaskan ion hidrogen bereaksi dengan kristal dan merusak anamel. Selanjutnya bakteri pada dentim menyebabkan dekalsifikasi dentim yang merusak suatu permukaan gigi. Hal ini dapat menyebabkan produksi asam. kondisi ini akan terus menerus menyebabkan proses demineralisasi gigi yang akan terus berlanjut tergantung pada produk yang di hasilkan oleh bakteri (Hadiana dkk, 2015).

Bakteri *Streptococcus sp* menggunakan fruktosa dalam metabolisme glikolisis yang memperoleh suatu energi. Pembentukan alfa sangat lengket, sehingga tidak dapat larut dalam air. Hal inilah yang dimanfaatkan oleh *Streptococcus sp* yang berkembang dan membentuk plak gigi. Enzim menambahkan banyak glukosa ke satu sama lain agar membentuk dextran yang memiliki struktur sangat mirip dengan amylase, dan menuju ke pembentukan plak gigi. Hal ini adalah tahap pembentukan lubang pada gigi yang biasa dikenal dengan karies (Listriana dkk, 2018).

## 5. *Staphylococcus*

*Staphylococcus* memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*  
 Divisi : *Firmicutes*  
 Class : *Bacilli*  
 Ordo : *Bacillales*  
 Family : *Staphylococcaceae*  
 Genus : *Staphylococcus*  
 Spesies : *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* adalah bakteri gram positif yang berbentuk bulat, yang tersusun dalam rangkaian beraturan seperti anggur. Bakteri ini mempunyai metabolisme aktif untuk memfermentasikan karbohidrat. Bakteri ini tumbuh cepat pada suhu 37 °C, koloni pada kultur berbentuk buldar, halus, halus, menonjol, dan memantulkan cahaya (Susmitha, 2019).



**Gambar 5.** *Staphylococcus aureus* pembesaran 1000x  
 (Sumber : Aini dkk, 2018).

## 6. *Lactobacillus*

*Lactobacillus* memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*  
 Divisi : *Firmicutes*  
 Class : *Bacilli*  
 Ordo : *Lactobacillales*  
 Family : *Lactobacillaceae*  
 Genus : *Lactobacillus*  
 Spesies : *Lactobacillus acidophilus*

*Lactobacillus* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang dengan ujung setengah lingkaran atau bacil. *Lactobacillus* diklasifikasikan sebagai bakteri lactic acid karna mampu memfermentasikan gula menjadi asam laktat dan organophosphat yaitu memperoleh hidrogen atau elektron dari fermentasi gula (Yulia dkk, 2020).



**Gambar 6.** *Lactobacillus* pembesaran 1000x (Sumber : Yulia dkk, 2020)

## C. Tinjauan Umum Tentang Media Bakteri

### 1. Pengertian Media

Media adalah campuran nutrient atau zat – zat makanan yang dibutuhkan oleh organisme untuk pertumbuhan media. Untuk menumbuhkan mikroba dibutuhkan juga isolasi dan inokulasi mikroba serta uji fisiologi dan uji biokimia mikroba. Media yang baik harus berupa molekul – molekul rendah dan juga mudah larut dalam air. Kemudian nutrient dalam media harus memenuhi kebutuhan dasar mikroorganisme yang meliputi : air, karbon, energi, dan faktor yang tidak mengandung zat-zat penghambat serta media harus tetap steril (Yusminar dkk, 2017).

Tujuan menggunakan media yaitu dengan media pertumbuhan dapat dilakukan isolasi mikroorganisme mejadi kultur murni yang dapat menginokulasi mikroorganisme dari suatu sampel pemeriksaan serta digunakan juga untuk mengisolasi, menumbuhkan organisme, memperbaiki jumlah dan menguji sifat – sifat fisiologinya (Yusminar dkk, 2017).

## 2. Sifat Media

Media digunakan bukan hanya untuk pertumbuhan perkembangbiakan mikroba, melainkan juga untuk tujuan isolasi, seleksi, evaluasi, dan diferensiasi. Oleh karena itu, setiap media memiliki spesifik yang sesuai dengan kebutuhannya, sehingga didasarkan oleh sifatnya maka media dapat dibedakan menjadi 4 kelompok yaitu (Afrinis dkk, 2020).

### a) Media Umum

Media ini biasanya digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan satu atau lebih kelompok mikroba secara umum, contohnya yaitu media agar nutrisi/*Nutrient Agar* (NA) untuk bakteri, dan agar kentang/ potato Dextrose Agar (PDA) untuk jamur.

### b) Media pengaya

Media ini merupakan jenis bakteri yang memiliki peluang lebih baik untuk tumbuh dan berkembang lebih cepat dibandingkan yang lain yang ditemukan di media yang sama.

### c) Media Selektif

Jenis media ini hanya dapat ditumbuhi oleh satu atau lebih jenis mikroba tertentu, akan tetapi menghambat atau mematikan jenis-jenis lainnya, contohnya media SS Agar (*Salmonella-Shigella*) yang hanya untuk menumbuhkan bakteri *Salmonella* dan *Shigella*.

### d) Media Diferensial

Media ini digunakan hanya untuk penumbuhan mikroba tertentu saja serta penentuan sifat-sifatnya, contohnya media agar darah untuk pertumbuhan bakteri hemolitik.

## D. Tinjauan Umum Tentang Identifikasi Bakteri

Identifikasi merupakan suatu upaya untuk mengetahui nama suatu makhluk hidup didalam suatu kelompok tertentu berdasarkan karakteristik persamaan dan perbedaan yang dimiliki masing-masing makhluk hidup. Dalam identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan cara pengamatan baik secara morfologi maupun fisiologi (Lawnia, 2017).

Pengamatan morfologi dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Karakteristik makroskopis bakteri dapat dilakukan dengan pengamatan bentuk koloni, tipe koloni bakteri, serta ukuran koloni bakteri. Sedangkan untuk karakteristik mikroskopis bakteri terdiri dari bentuk sel, ukuran sel, dan pewarnaan (Utami, 2017).

#### 1. Bentuk Bakteri

Bentuk morfologi dari bakteri dibagi menjadi 3 bagian, diantaranya yaitu (Rollando, 2019).

##### a) Basil

Bentuk sel bakteri Sebagian besar berbentuk basil seperti batang pendek, agak silindris. Bakteri basilus juga ada yang saling melekat satu sama lain dan juga ada yang saling lepas. Bakteri ini dapat dikelompokkan menjadi beberapa kelompok berdasarkan jumlah koloni, yaitu monobasil yakni satu sel bakteri, diplobasil bakteri berbentuk batang bergandengan dua dan stereo basil yaitu sel bakteri berbentuk batang memanjang membentuk rantai.

##### b) Kokus

Bakteri ini berbentuk sel bulat seperti bola-bola kecil. Yang dibedakan beberapa kelompok, yaitu monokokus yang merupakan sel bakteri tunggal, ada kelompok diplokokus yang bergandengan dua-dua. Jenis sarkina adalah sel bakteri yang berkelompok empat-empat yang menyerupai kubus, ada *Streptococcus* yang berbentuk sekompok sel bakteri bulat membentuk rantai Panjang dan ada stafilokokus yaitu sel bakteri yang memiliki sekelompok sel tidak teratur sehingga mirip kumpulan buah anggur.

##### c) Spiral

Spirillum merupakan bentuk sel bakteri yang melilit. Golongan ini tidak begitu banyak dibandingkan dengan bentuk basil dan kokus. Terdapat tiga macam bentuk spiral, yaitu ada spiral yang merupakan sel bakteri yang berbentuk spiral dan tubuhnya kaku, kedua bentuk spiral tak

sempurna, dan ketiga spirochete yaitu sel bakteri yang berbentuk spiral dan tubuhnya lentur.

## 2. Pewarnaan Bakteri

Pewarnaan pada dasarnya adalah prosedur mewarnai bakteri menggunakan zat warna yang dapat menonjolkan struktur tertentu dari bakteri. Jenis pewarnaan yang paling sering digunakan dalam mengidentifikasi bakteri adalah pewarnaan gram. Prinsip pewarnaan gram tergantung dengan reaksi dinding sel bakteri terhadap zat pewarna safranin dan kristal violet. Berdasarkan pewarnaan gram bakteri dapat dibagi menjadi dua bagian golongan yaitu gram positif dan gram negatif (Utami, 2017).

## E. Tinjauan Umum Tentang Pemeriksaan Bakteri *Streptococcus sp*

### 1. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri adalah teknik pemisahan suatu mikroba yang dilakukan dengan mengambil bakteri dari medium atau dari lingkungan asalnya lalu menumbuhkannya didalam media padat yang sudah dibuat sebelumnya sehingga akan diperoleh biakan yang murni. Pemisahan suatu bakteri dari populasi campuran diperlukan cara untuk mengetahui jenis, kultur, morfologi, fisiologi dan karakteristik bakteri tersebut. teknik tersebut disebut sebagai isolasi disertai dengan pemurnian. Ada beberapa metode isolasi bakteri yang digunakan untuk memperoleh suatu mikroorganisme yang murni dari suatu biakan campuran (Muharani, 2020).

#### a) Teknik Cawan Tuang (*Pour plate*)

Metode cawan tuang adalah biakan murni yang diperoleh dari populasi campuran mikroorganisme dengan cara mengencerkan dan menuangkan sampel ke dalam cawan steril, dilanjutkan dengan menuangkan agar-agar yang telah dicairkan dan diinginkan (pada suhu  $\pm 50^{\circ}\text{C}$ ). Kemudian hasilnya akan dinyatakan dalam bentuk koloni.

#### b) Teknik Cawan Sebar (*Spread plate*)

Metode cawan tebar umumnya hampir sama dengan metode gores dengan menggunakan ose steril yang kemudian dicelupkan dalam

suspensi organisme yang sudah diencerkan, kemudian dibuat serangkaian goresan sejajar tapi tidak saling menutupi permukaan medium yang telah memadat. Hal tersebut dilakukan agar biakan tetap baik (Senianti dkk, 2017).

c) Teknik Cawan Gores (*Streak plate*)

Metode cawan tuang prinsipnya yaitu untuk mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni lain sehingga mempermudah proses isolasi. Cara ini dilakukan dengan menggosokkan ose pada cawan petri berisi media yang sudah steril.

Keunggulan dari metode cawan gores adalah dapat menghemat bahan dan waktu, selain itu metode cawan gores jika dilakukan dengan baik dapat menghasilkan terisolasinya mikroorganisme yang diinginkan.

## 2. Macam – Macam Cara Isolasi Bakteri

a. Isolasi dengan cara pengenceran (*dilution*) (Adelina, 2019).

1. Teknik Preparasi Suspensi

Sampel yang telah diambil sebaiknya disuspensi terlebih dahulu kedalam aquades steril. Tujuan dari Teknik ini adalah untuk melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya kedalam air sehingga lebih mudah penanganannya. Macam-macam cara preparasi tergantung pada bentuk sampel:

a) Teknik pengulasan (*Swab*)

Teknik ini dilakukan dengan catton bud steril pada suatu sampel yang memiliki permukaan luas dan umumnya sulit dipindahkan. Tujuan pengulasan ini untuk menggunakan catton bud memutar sehingga seluruh permukaan kapas sampel permukaan sampel. Ulas lebih dari 22 kali akan lebih baik jika catton bud dicelupkan terlebih dahulu kedalam larutan (Pepton atau water).

b) Teknik Pencucian

Pencucian merupakan prosedur kerja dengan mencelupkan sampel pada aquadest dengan perbandingan 1: 9 (w/v). Selanjutnya

air cucian diinokulasi pada media yang telah disiapkan. Kemudian amati pertumbuhan mikroba yang telah terjadi pada media setelah proses diinokulasi selama 3 samapai 7 hari pada suhu ruang dan suhu kamar.

c) Teknik Penghancuran (*Maserasi*)

Sampel yang berbentuk padat akan ditumbuk menggunakan mortar kemudian pastle sehingga mikroba yang terdapat pada permukaan atau di dalam akan terlepas dan dilarutkan ke dalam air.

d) Teknik pengenceran bertingkat

Tujuan dari Teknik pengenceran bertingkat ini adalah untuk memperkecil atau memngurangi jumlah suatu mikroba yang sudah tersuspensi dalam cairan.

### 3. Media Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus sp*

a) Isolasi Pada Media *Brain-Heart-Infusion* (BHIB)



**Gambar 7.** Brain-Heart Infusion Broth  
(Sumber : Indaryati, 2018).

*Brain-heart infusion broth* (BHIB) merupakan media penyubur yang berguna untuk pertumbuhan berbagai jenis bakteri baik bentuk cair maupun agar yang terdiri dari protein dan karbohidrat media cair baerupa kaldu yang kaya akan nitrogen, vitamin, dan *enzymatic digest gelatin* didalam BHIB. Ada beberapa bahan utama yang perlu ditambahkan yaitu jaringan hewan ditambah pepton, buffer, fosfat, dan sedikit dekstrosa. Penambahan karbohidrat memungkinkan bakteri dapat menggunakan langsung sebagai sumber energi (Melinda, 2021).



Komposisi yang terkandung dalam media BHIB:

*Brain Infusion solids, Beef Heart infusion solids, Proteose Peptone, Glucose Sodium chloride Di-Sodium Phosphate.*

**b) Isolasi pada media *Blood Agar Plate (BAP)***

*Blood Agar Plate (BAP)* adalah media padat dan media diferensial, yang dapat digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dan mengklasifikasikan kelompok bakteri. Media ini juga merupakan tempat berkembang biaknya bakteri patogen yang dibedakan berdasarkan bentuk dan jenisnya serta efek eksotoksin hemolitiknya terhadap sel darah merah. Media ini mendorong pertumbuhan bakteri patogen seperti *streptococcus sp* karena bakteri ini adalah bakteri hemolitik sehingga media yang digunakan untuk pertumbuhan mengandung banyak darah (Nurhidayanti, 2019).



**Gambar 8.** Media *Blood Agar Plate*  
(Sumber : Hidayati, 2020).

Media *Agar Darah* adalah media yang diperkaya dengan nutrisi tambahan yang kaya untuk bakteri. Jadi, media *Blood Agar* mencakup berbagai media pertumbuhan selektif dan diperkaya, karena mendorong pertumbuhan organisme yang berbeda dan dapat memberikan karakteristik khusus untuk beberapa kelompok bakteri tertentu. (Djohari, 2020). Adapun komposisi Media BAP:

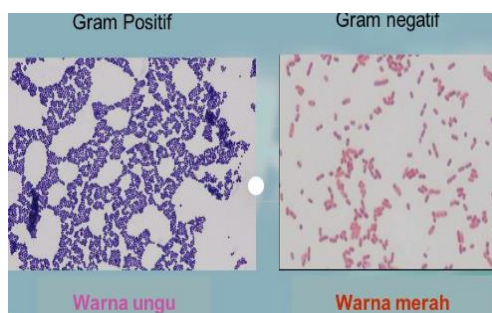
- a. *Nutrient substrate* : sebagai sumber energi atau nutrisi bagi bakteri.
- b. *Natrium chloride* : sebagai pengatur keseimbangan tekanan osmosis.
- c. *Agar* : sebagai bahan pematid media.

#### 4. Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri adalah upaya yang dilakukan untuk mengelompokkan makhluk hidup ke dalam suatu kelompok tertentu yang berdasarkan karakteristik persamaan dan perbedaan yang dimiliki masing – masing makhluk hidup. Identifikasi merupakan biakan murni suatu bakteri yang telah diperoleh dari hasil isolasi yang dilakukan melalui pengamatan yang meliputi ciri – ciri, morfologi, koloni dan pengujian fisiologi dan biokimianya. Bakteri dapat diidentifikasi dengan melihat reaksi biokimia tersebut. Sehingga dapat disimpulkan bahwa identifikasi suatu bakteri adalah kegiatan untuk mengetahui sifat dan ciri – ciri bakteri (Dewi, 2017).

##### a. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram merupakan pewarnaan yang digunakan untuk identifikasi mikroorganisme. Pada pengecetan gram bertujuan untuk menentukan sifat gram serta morfologi dari bakteri yang diidentifikasi. Pewarnaan gram dilakukan dengan empat Langkah yaitu: kristal violet sebagai warna utama mempunyai warna ungu, mengintensifani cat warna dengan menambahkan larutan mordan (lugol), pencucian atau dekolorisasi dengan alkohol dan pemberian cat lawan yaitu cat warna safranin. Reaksi pewarnaan gram didasiri pada jumlah peptidoglikan yang ditemukan pada dinding sel bakteri tersebut. Bakteri gram positif memiliki banyak lapisan peptidoglikan, yang menyebabkan menahan molekul-molekul asam-teikoat. Sedangkan bakteri dengan gram negatif hanya memiliki satu peptidoglikan tanpa asam-teikoat (Umdatul, 2021).



**Gambar 9.** Pewarnaan Gram  
(Sumber : Ambarawati, 2020)

## b. Uji Biokimia

Uji biokimia adalah uji yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu biakan murni mikroorganisme dari hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologisnya. Suatu bakteri tidak dapat dideterminasi hanya berdasarkan sifat-sifat morfologinya saja, sehingga perlu diteliti sifat-sifat biokimia dan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhannya. Tujuan dilakukannya uji biokimia adalah untuk melihat perubahan warna pada media menjadi kuning yang terjadi pada tabung durham dan adanya gas yang dapat dilihat pada tabung jika terdapat bakteri (Lutfi dkk, 2015).

### 1. *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*

Uji *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)* merupakan rangkaian uji biokimia untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasikan gula yang terkandung di dalam media TSIA. Media ini terdiri dari ferro sulfat (untuk mendeteksi pembentukan H<sub>2</sub>S), ekstrak jaringan (substrat protein), 1% sukrosa, dan 0,1 % glukosa fenol merah (Rafika dkk, 2022).

Hasil ini digunakan untuk membedakan bakteri dan memfermentasi glukosa kemudian membentuk asam, sehingga dapat dibedakan dengan bakteri gram negatif lain. Media yang digunakan mempunyai dua bagian, yaitu slant (lereng) dan butt (dasar). Perubahan diamati setelah inkubasi adalah warna medium kuning menandakan asam, warna medium menjadi lebih merah menandakan medium menjadi basa (Aini, 2018).



**Gambar 10.** Uji TSIA  
(Sumber : Wardono, 2018)

## 2. Uji Katalase

Identifikasi bakteri tidak dapat dilakukan dengan mengetahui sifat morfologinya saja, namun harus mengetahui sifat fisiologis bakteri juga. Sifat morfologis bakteri dapat tampak serupa bahkan tidak dikenal sehingga dengan melakukan uji biokimia terhadap koloni bakteri dapat mengetahui sifat dan menentukan spesies bakteri (Febriyanti dkk, 2018).



**Gambar 11.** Uji Katalase  
(Sumber : Febriyanti dkk, 2018)

Uji katalase berfungsi untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim katalase. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob dapat menguraikan zat toksik tersebut. Penentuan adanya katalase diuji dengan cara di atas kaca objek ditetesi dengan larutan  $H_2O_2$  (Hidrogen Peroksida) 3% yang ditambahkan bakteri yang telah dibiakkan. Hasil uji positif ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung udara ketika bakteri telah ditetesi larutan  $H_2O_2$  (Djohari dkk, 2020).