

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Diabetes Melitus

1. Pengertian Diabetes Melitus

Diabetes melitus merupakan penyakit yang disebabkan oleh kelainan yang berhubungan dengan hormon insulin. Kelainan yang dimaksud berupa jumlah produksi hormon insulin yang kurang karena ketidakmampuan organ pankreas memproduksi insulin yang telah dihasilkan organ pankreas secara tidak baik. Akibat dari kelainan ini, maka kadar glukosa didalam darah akan meningkatkan tidak terkendali (Sutanto, 2017).

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah sebagai akibat dari kekurangan sekresi insulin (Damayanti, S. 2015).

2. Klasifikasi Diabetes Melitus

Klasifikasi Diabetes Melitus Menurut (Tandra, 2018) Sebagai Berikut:

a. Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes Melitus Tipe 1 disebut juga Insulin Dependent Diabetes Melitus (INDDM) merupakan diabetes yang bergantung pada insulin. Kasus diabetes tipe 1 ini terjadi sekitar 5%-10% penderita. Pasien dengan diabetes tipe ini sangat bergantung terhadap insulin yang disuntikan untuk mengontrol gula darah. Diabetes tipe 1 terjadi karena adanya kerusakan sel beta pada pankreas dalam memproduksi insulin. Ketidakmampuan sel beta dalam memproduksi insulin menyebabkan glukosa yang berasal dari luar tubuh atau dari makanan tidak tersimpan dihati dan menumpuk di dalam darah sehingga menimbulkan hiperglikemia.

b. Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes melitus tipe 2 biasa disebut Non-Insulin Dependent Diabetes Melitus (NIDDM) adalah penyakit gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan gula darah akibat penurunan sekresi insulin oleh

sel beta pankreas atau gangguan fungsi insulin (resistensi insulin). Penderita DM2, insulin yang ada tidak dapat bekerja dengan baik karena reseptor insulin pada sel berkurang atau mengalami perubahan struktur sehingga hanya sedikit glukosa yang berhasil masuk ke dalam sel, akibat sel mengalami kekurangan glukosa yang mana disisi lain glukosa menumpuk dalam darah. Kondisi ini bila dalam jangka panjang akan berdampak pada rusaknya pembuluh darah dan menimbulkan berbagai komplikasi.

c. Diabetes Gestasional

Diabetes kehamilan atau disebut diabetes tipe gestasional, ini baru di ketahui pada usia kehamilan trimester kedua, namun sering di jumpai pada trimester ketiga (tiga bulan terakhir kehamilan) akibat pembentukan hormon. Kadar gula darah akan kembali normal pada persalinan. Hal yang harus diwaspadai yaitu ibu hamil dengan diabetes dapat berubah menjadi diabetes melitus tipe 2. Pengontrolan dan pemeriksaan secara rutin sangat penting dilakukan ibu hamil dengan diabetes untuk mencegah komplikasi.

3. Patofisiologi Diabetes Melitus

Proses metabolisme merupakan proses kompleks yang selalu terjadi dalam tubuh manusia. Setiap hari manusia mengkonsumsi karbohidrat yang akan diubah menjadi glukosa, protein menjadi asam amino dan lemak menjadi asam lemak. Zat zat makanan tersebut akan diserap oleh usus kemudian masuk kedalam pembuluh darah dan diedarkan keseluruh tubuh sebagai bahan bakar metabolisme zat makan harus masuk kedalam sel dengan dibantu oleh insulin. Bila insulin tidak ada maka glukosa tidak dapat masuk kedalam sel sehingga glukosa akan tetap berada dalam pembuluh darah sehingga kadar glukosa darah akan meningkat (Ernawati, 2013).

4. Faktor Resiko Penyebab Diabetes Melitus

Diabetes melitus terjadi karena adanya proses degenerasi atau proses penurunan kerja insulin oleh sel-sel beta akibat lansia dan akibat Obesitas. Faktor Penyebab penyakit DM antara lain (Kartikasari, 2019):

a. Faktor genetik

Faktor genetik adalah suatu kecenderungan genetik penyebab diabetes melitus. Kecenderungan genetik ini hanya terjadi pada individu yang mempunyai tipe antigen HLA (Human Leucocyte Antigen). HLA adalah kelompok gen yang bertugas sebagai antigen tranplantasi dan proses imun lainnya. Sehingga DM tipe 2 akan meningkat cepat jika orang tua atau saudara kandung mengalami penyakit ini.

b. Faktor Imunologi

Bagi pengidap DM menunjukkan bahwa, adanya suatu respon autoimun yang terjadi didalam tubuh merupakan respon abnormal dimana antibodi mengarah pada jaringan tubuh dengan cara bereaksi terhadap jaringan yang dianggapnya seakan-akan itu sebagai jaringan.

a. Faktor usia

Berdasarkan hasil penelitian, usia yang paling banyak menderita diabetes melitus adalah di usia >45 tahun. Pada usia ini akan terjadi penurunan fungsi endokrin pankreas yang memproduksi hormon berupa insulin.

b. Faktor obesitas

Pada derajat kegemukan dengan IMT > 23 akan mengalami peningkatan kadar glukosa darah menjadi 200 mg.

c. Faktor stres

Stres menyebabkan hormon counter-insulin (kerjanya berlawanan dengan insulin) sehingga kerjanya lebih aktif. Jadi, beban yang tinggi akan membuat suatu pankreas mudah rusak hingga berdampak pada penurunan insulin yang mengakibatkan terjadinya DM.

d. Pola makan yang salah

Kekurangan gizi atau kelebihan berat badan sama-sama akan meningkatkan resiko terkena DM. Malnutrisi bisa merusak pankreas, sedangkan obesitas bisa meningkatkan gangguan kerja atau resistensi insulin. Begitupun dengan pola makan yang tidak teratur dan cenderung terlambat juga akan berperan pada ketidak stabilan kerja pankreas.

e. Bagi pengonsumsi alkohol dan rokok

Adanya faktor lain yang berhubungan dengan suatu perubahan dari lingkungan tradisional yang berperilaku seperti gaya kebarat-baratan yang mengikuti perubahan-perubahan yang terjadi di era milenial ini seperti konsumsi alkohol dan rokok, hal ini juga berperan mengakibatkan dalam peningkatan DM tipe 2. Dimana alkohol akan mengganggu metabolisme gula darah terutama bagi penderita DM, sehingga akan mempersulit regulasi gula darah dan meningkatkan tekanan darah.

f. Hipertensi, Orang dengan tekanan darah tinggi memiliki risiko lebih tinggi terkena diabetes tipe 2.

g. Perawatan kaki tidak teratur.

5. Diagnosis Diabetes Melitus

a) Kadar glukosa darah sewaktu (mg/dl) menurut Nurarif & Kusuma, 2015

1. Plasma vena ≥ 200 , nilai normal < 100
2. Darah kapiler ≥ 200 , nilai normal < 90

b) Kadar glukosa darah puasa (mg/dl) menurut Nurarif & Kusuma, 2015

1. Plasme vena ≥ 126 , nilai normal < 100
2. Darah kapiler ≥ 100 , nilai normal < 90

6. Gejala Diabetes Melitus

Gejala yang sering dialami penderita diabetes melitus sebagai berikut:

a) *Poliuria* (Meningkatnya eksresi urin)

Pada penderita diabetes melitus mengalami produksi urin lebih banyak dari biasanya karena hiperglikemia menyebabkan diuresis

osmotik sehingga ginjal akan mengeluarkan urin dalam jumlah yang lebih banyak (Ridwan Z, et al., 2016).

b) *Polidipsia* (Peningkatan rasa haus)

Rasa haus yang berlebih terjadi akibat ginjal yang mengeluarkan glukosa dalam jumlah yang besar sehingga volume urin juga yang dikeluarkan lebih banyak menyebabkan terjadinya dehidrasi ekstrasel, mulut kering (Rahman, F. N. A., 2015).

c) *Poliphagia* (Peningkatan rasa lapar).

Meningkatnya rasa lapar pada penderita diabetes melitus disebabkan karena gula darah yang tinggi tidak dapat masuk ke dalam sel yang seharusnya digunakan untuk metabolisme. Ketika glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel, maka tubuh akan mengirim sinyal lapar untuk mendapatkan glukosa yang lebih banyak agar sel-sel dapat berfungsi (Widayanti, P., 2014).

7. Komplikasi Diabetes Melitus

1) Komplikasi Akut (Fatimah, R. N., 2015).

a) Hipoglikemia, adalah kadar glukosa darah seseorang dibawah normal (<50 mg/dl). Hipoglikemia lebih sering terjadi DM tipe 1 yang dapat dialami 1-2 kali per minggu. Kadar gula terlalu rendah menyebabkan sel-sel otak tidak mendapat pasokan energi sehingga tidak berfungsi bahkan dapat mengalami kerusakan.

b) Hiperglikemia adalah kadar gula darah meningkat secara tiba-tiba, dapat berkembang menjadi keadaan metabolisme yang berbahaya antara lain ketoasidosis diabetik, koma hiperosmoter non ketotik (KHNK) dan kemolakto asidosis.

2) Komplikasi Kronis (Fatimah, R. N., 2015).

a) Komplikasi Makrovaskuler

Terjadinya pembekuan darah pada sebagian otak (trombosit otak), yang menyebabkan penyakit jantung koroner, gagal jantung kongetif, dan stroke.

b) Komplikasi Mikrovaskuler (Fatimah, R. N., 2015).

Terjadi pada penderita diabetes melitus tipe 1, seperti penyakit ginjal (nefropati), kebutaan (retinopati), neuropati dan amputasi.

B. Tinjauan Umum Tentang Ulkus Kaki Diabetes Melitus

1. Definisi Ulkus Diabetes Melitus

Ulkus atau luka adalah masalah serius yang harus ditangani oleh dokter karena perawatannya lama dan dapat mengakibatkan amputasi (Tandra, 2018). Ulkus kaki diabetes adalah salah satu komplikasi kronis dari penyakit diabetes melitus berupa luka pada permukaan kulit kaki penderita diabetes melitus disertai dengan kerusakan jaringan bagian dalam atau kematian jaringan, baik dengan ataupun tanpa infeksi, yang berhubungan dengan adanya neuropati atau penyakit arteri perifer pada penderita diabetes melitus (Alexadous K & Doupis J., 2016).

Ulkus diabetes adalah kerusakan sebagian (partial thickness) atau keseluruhan (full thickness) pada kulit yang dapat meluas ke jaringan bawah kulit, tendon, otot, tulang atau persendiaan yang terjadi pada seseorang yang menderita diabetes melitus (DM), kondisi ini timbul akibat terjadinya peningkatan kadar gulayang tinggi. Jika ulkus kaki berlangsung lama, tidak dilakukan penyelaksanaan dan tidak sembuh, luka akan menjadi terinfeksi. Ulkus kaki, terinfeksi, neuroarthropati dan penyakit arteri perifer sering mengakibatkan gangrene dan amputasi ekstremitas bagian bawah (Tarwoto, 2016).

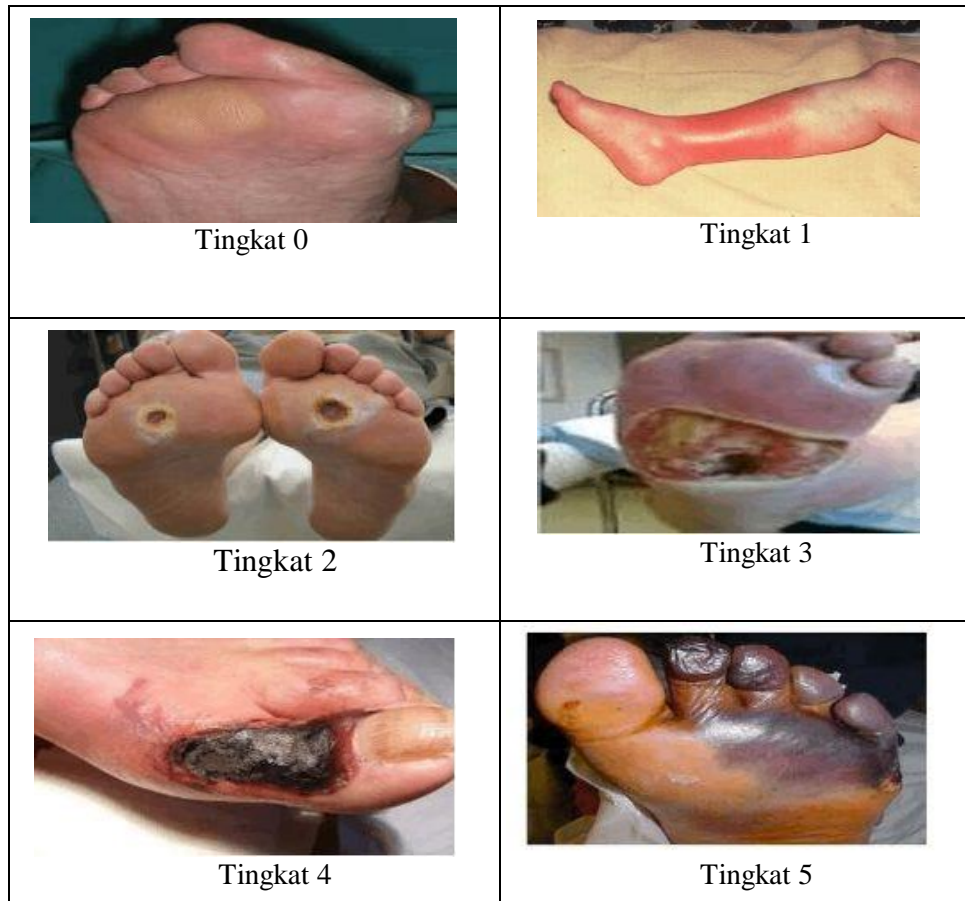
2. Klasifikasi Ulkus Diabetes Melitus

Menurut Wagner, ulkus kaki pada penderita diabetes melitus dapat diklasifikasikan sebagai berikut: (Damayanti S, 2015)

- a) Tingkat 0, yaitu tidak terdapat lesi terbuka di kaki, gejala hanya nyeri.
- b) Tingkat 1, yaitu terdapat ulkus dengan infeksi superficial.
- c) Tingkat 2, yaitu ulkus meluas mengenai ligament, tendon, kapsul sendi atau otot dalam tanpa abses atau osteomielitis.
- d) Tingkat 3, yaitu ulkus yang dalam dengan abses, osteomielitis atau infeksi sendi.

e) Tingkat 4, yaitu gangren setempat pada bagian depan kaki atau tumit.

f) Tingkat 5, yaitu gangren luas meliputi seluruh kaki.



Gambar 2.1 Ulkus kaki Diabetikum
(Sumber: Damayanti, 2015)

3. Patofisiologi Ulkus Diabetes Melitus

Ulkus diabetikum disebabkan 3 faktor yang disebut trias, yaitu: neuropati, iskemi, dan infeksi. Kadar glukosa darah tidak terkendali akan menyebabkan komplikasi kronik neuropati perifer berupa: neuropati sensorik, motorik, dan autonom.

- Neuropati sensorik biasanya cukup berat hingga menghilangkan sensasi proteksi yang berakibat rentan terhadap trauma fisik dan termal, sehingga meningkatkan risiko ulkus kaki.
- Neuropati motorik mempengaruhi semua otot, mengakibatkan penonjolan abnormal tulang, arsitektur normal kaki berubah, deformitas

khas yang menimbulkan terbatasnya mobilitas, sehingga dapat meningkatkan tekanan plantar kaki dan mudah terjadi ulkus.

- c) Neuropati autonom ditandai dengan kulit kering, tidak berkeringat dan peningkatan pengisian sekunder akibat pintasan arteriovenosus kulit. Hal ini menimbulkan timbulnya fisura, kerak kulit, sehingga kaki rentan terhadap trauma minimal (Kartika, 2017).

4. Faktor Resiko Terjadinya Ulkus Diabetes

Faktor resiko terjadinya ulkus diabetik adalah kadar gula yang tidak terkontrol, riwayat ulkus diabetic atau amputasi sebelumnya, kebiasaan merokok, edukasi yang buruk, Lama menderita diabetes melitus ≥ 10 tahun, obesitas, pengobatan tidak teratur, Glikolisasi Hemoglobin (HbA1C) tidak terkontrol dan status sosial ekonomi rendah. Jenis kelamin juga salah satu sebagai faktor resiko yang mempengaruhi terjadinya ulkus kaki diabetes seperti, laki-laki memiliki kecenderungan lebih tinggi untuk mengalami ulkus kaki diabetik jika dibandingkan dengan wanita (Prasetyono, 2016).

5. Pencegahan Ulkus Diabetes

- a. Pakailah alas kaki yang sesuai ukuran kaki.
- b. Gunakan selalu kaos kaki setiap hari.
- c. Tidak berjalan dengan kaki telanjang, meskipun dirumah.
- d. Periksa sepatu setiap hari dan bersihkan dari benda-benda asing.
- e. Lindungi kaki dari panas dan dingin.
- f. Jangan gunakan silet mengurangi kapalan.
- g. Pertahankan aliran darah ke kaki dengan baik. Pada saat duduk, luruskan kaki untuk beberapa saat.
- h. Datang kedokter untuk mendapat pengobatan bila terdapat penyakit jamur.
- i. kulit sedini mungkin, jangan membirkan luka kecil di kaki, sekecil apapun (Damayanti S, 2015).

C. Mekanisme Masuknya Bakteri Ke Dalam Luka Diabetes

Penderita diabetes melitus sangat mudah mengalami penyempitan pembuluh darah dibanding orang sehat. Setelah terjadi penyempitan, lama-

kelamaan pembuluh darah tersebut akan tersumbat (Cahyani 2014). Buruknya sirkulasi jaringan akan menyebabkan hipoksia dan cedera jaringan, merangsang reaksi peradangan yang akan merangsang terjadinya aterosklerosis. Dampak aterosklerosis yaitu sirkulasi jaringan menurun sehingga kaki menjadi atrofi, dingin dan kuku menebal. Kelainan selanjutnya terjadi nekrosis jaringan sehingga timbul ulkus yang biasanya dimulai dari ujung kaki atau tungkai (Hardiani, dkk 2016).

Luka diabetes merupakan komplikasi dari diabetes melitus yang rentan mengalami infeksi akibat (penempelan) invasi bakteri dan kondisi tingginya kadar gula darah pada pengidap diabetes akan menyebabkan respon imunitas menjadi lambat saat tubuh terpapar bakteri. Selain itu, meningkatnya kadar gula darah yang tinggi pada penderita diabetes akan menjadi sumber bahan makanan untuk pertumbuhan perkembangan bakteri tersebut (Wulandari & Ulipe, 2010). Suatu infeksi dapat terjadi dikarenakan adanya invasi dan multiplikasi mikroorganisme patogen di jaringan yang mengakibatkan luka pada jaringan serta terjadinya peradangan lokal dan pembentukan nanah (pus) (Singh dkk, 2013). Bakteri yang tumbuh akan menjadi faktor penyulit terhadap penyembuhan luka diabetes dan menyebabkan kerusakan berat pada jaringan tubuh. Infeksi bakteri dapat terjadi bila bakteri mampu melewati penghalang mukosa atau kulit dan menembus jaringan tubuh. Pada umumnya, tubuh berhasil mengeliminasi bakteri tersebut dengan respon imun yang dimiliki, tetapi bila bakteri berkembang biak lebih cepat dari pada aktivitas respon imun tersebut maka akan terjadi infeksi yang disertai dengan terjadinya inflamasi. Ulkus menjadi pintu gerbang masuknya bakteri baik itu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang menyebar cepat melalui organ tubuh yang mengalami luka terbuka sehingga menyebabkan kerusakan berat dari jaringan dan kadar glukosa yang tinggi menjadi tempat strategis perkembangan bakteri (Radji M, 2016). Infeksi dapat dengan mudah menyebar dari petugas ke pasien selama perawatan pribadi atau dengan menyentuh permukaan yang terkontaminasi seperti alat peralatan medis lainnya (Ely dkk, 2019).

Jumlah bakteri yang banyak dapat mempengaruhi beberapa hal diantaranya yaitu pada proses pembersihan luka. Luka yang sering terbuka dalam waktu lama memudahkan bakteri masuk melalui udara, kemudian bakteri ini akan berada di area sekitaran jaringan kulit yang terbuka sehingga kalau tidak segera mendapatkan pengobatan dan perawatan yang intensif, maka akan memudahkan untuk terjadinya infeksi yang segera meluas dan dalam keadaan lebih lanjut memerlukan proses amputasi namun, bukan hanya itu bakteri ini dapat ditemukan pada alat yang digunakan dirumah sakit seperti peralatan medis berupa alat kesehatan habis operasi dan alat pembersih luka, dimana ketika digunakan maka bakteri akan melakukan invasi pada jaringan kulit yang terbuka (Anggriawan, 2014).

Diabetes melitus juga bisa meningkatkan risiko terjadinya infeksi saluran pernapasan bawah dan infeksi pada organ tubuh lainnya (Airliny, 2015). Bakteri penghasil pus (nanah) yang paling sering adalah *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas s.*, *Escherichia coli* dan *Streptococcus sp* (Kumar, 2013). Dimana infeksi yang dihasilkan oleh bakteri ini yaitu merusak sel leukosit jenis neutrophil dengan cara dilepas sehingga akan membentuk abses pada jaringan tubuh yang mengalami luka diabetes (Radji M, 2016).

D. Tinjauan Umum Bakteri *Streptococcus sp*

1. Definisi *Streptococcus sp*

Streptococcus sp adalah jenis bakteri kokus gram positif yang tersusun secara berpasangan dan berbentuk rantai. Bakteri ini memiliki sifat anaerob fakultatif, bakteri yang memiliki kekhususan yaitu memerlukan media yang kaya akan kandungan darah. Apusan dari tempat infeksi (tenggorokan, luka) dan kultur darah harus diambil. Koloni dibedakan dari jenis hemolisisnya, yaitu hemolisa lengkap (β - hemolisa) atau hemolisa tidak lengkap (α -hemolisa) (Linting, 2021).

Streptococcus sp adalah bakteri gram positif berbentuk bulat dan tersusun seperti rantai selama masa pertumbuhannya. Bakteri ini banyak

terdapat di alam, bakteri ini menghasilkan berbagai zat ekstraseluler dan enzim. *Streptococcus sp* merupakan kelompok bakteri yang heterogen dan tidak ada sistem yang mengklasifikasikan. Dua puluh spesies termasuk *Streptococcus pyeogenes* (group A), *Streptococcus agalactie* (group B), dengan kombinasi gambaran: sifat pertumbuhan koloni, pola hemolisi pada agar darah, komposisi antigenik pada substansi dinding sel group- spesifik, dan reaksi biokimia. Tipe *Streptococcus pneumoniae* (pneumokokus) diklasifikasikan lebih lanjut berdasarkan komposisi antigenik polisakarida kapsular (Harianti, 2018).

Streptococcus sp adalah salah satu genus dari bakteri non motif yang mengandung sel gram positif, berbentuk bulat, oval dan berbentuk rantai pendek, panjang atau berpasangan, bakteri ini tidak membentuk spora, bakteri ini dapat ditemukan dibagian mulut, usus manusia dan hewan (Widyati, 2014).

2. Bakteri Gram Positif

Bakteri yang mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan gram sehingga akan berwarna biru atau ungu di bawah mikroskop. Golongan ini memiliki peptidoglikan setebal 20-80 nm dengan komposisi terbesar teichoic, asam teichuroni, dan berbagai macam polisakarida (Siregar, 2021).

3. Taksonomi *Streptococcus sp*



Gambar 2.2 *Streptococcus sp*

(Sumber: Donald, 2018).

Taksonomi untuk bakteri *Streptococcus sp* yaitu:

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Firmicutes*
Class : *Bacilli*
Ordo : *Lactobaciales*
Family : *Streptococcaceae*
Genus : *Streptococcus*
Spesies : *Streptococcus pyogenes*
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus viridans
Streptococcus agalactiae (Soedarto, 2015).

4. Morfologi *Streptococcus sp*

Streptococcus sp adalah bakteri yang berbentuk bulat, gram positif dengan pengelompokan karakteristik membentuk rantai, tidak berspora, tidak bergerak. Beberapa spesies membentuk kapsul. Bersifat aerob dan anaerob fakultatif. Meragi karbohidrat menghasilkan asam. Bakteri ini secara individu berbentuk bulat telur dan ada yang memipih. Dalam kultur muda mudah diwarnai dan bersifat gram positif. *Streptococcus sp* tidak tahan asam, panjang rantai bervariasi, yaitu pendek: 4 - 8 sel, panjang: 20 – 30 atau lebih (Linting, 2021).

Pembentukan kelompok (rantai) lebih tampak pada kelompok hemolitik dan patogen dari pada kelompok yang kurang virulen. Dalam beberapa kultur, rantai dibentuk oleh pasangan sel-sel, sehingga ada kemungkinan dasar pengelompokan adalah *Diplococcus*. *Pneumococcus* termasuk dalam tribe *Streptococcus*, secara karakteristik terlihat merupakan pasangan - pasangan (*diplokokus*) dengan bentuk sel lancet panjang. Bakteri ini mayoritas timbul secara *aerob* dan ada juga *anaerob* (*Peptostreptococcus*) (Linting, 2021).

5. Patogenesis *Streptococcus sp*

Patogen adalah organisme atau mikroorganisme yang menyebabkan penyakit pada organisme lain. Kemampuan bakteri untuk menyebabkan

penyakit tergantung pada patogenisitasnya. *Streptococcus* β - strain hemolitik adalah salah satu bakteri patogen yang dapat masuk ke luka, lecet, makanan, atau ketika sistem kekebalan tubuh melemah. *Streptococcus* hemolitik umumnya lebih patogen daripada strain *streptokokus* hemolitik lainnya, karena spesies bakteri lebih banyak menghasilkan toksin atau toksin yang dapat merusak sel darah merah (Suardana dkk, 2021).

E. Tinjauan Umum Tentang Media

1. Pengertian Media

Media yaitu suatu bahan yang termasuk dari gabungan nutrisi atau zat makanan yang digunakan sebagai mengembangbiakkan mikroorganisme. Susunan dari kadar nutrisi dari suatu media untuk mikroba harus mempunyai seimbang sebagai pertumbuhan mikroba sehingga dapat menjadi bagus. Harus diketahui memiliki senyawa-senyawa yang terjadinya penghambat atau terjadinya racun bagi mikroba jika kadar dari itu terlalu banyak (seperti garam-garam dari asam lemak, gula dan lain-lain) (Syafitri, 2020).

2. Sifat Media

a. Media Umum

Media yang biasanya dipergunakan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan satu atau lebih kelompok mikroba secara umum, contohnya yaitu nutrisi/Nutrient Agar (NA) untuk bakteri, dan agar kentang/potato Dextrose Agar (PDA) untuk jamur (Ristiati, 2015).

b. Media Diferensial

Media tempat bakteri tumbuh disebut media diferensial, dan dipakai untuk jenis bakteri satu dengan lainnya berdasarkan sifat biokimia bakteri. Contohnya media agar darah untuk pertumbuhan bakteri yang hemolitik (Arianda, 2016).

c. Media Selektif

Jenis media ini hanya ditumbuhkan 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 (Ristianti, 2015).

d. Media Diperkaya

Media diperkaya (enrichment) adalah media yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Media tersebut memiliki konstituen nutrisi yang mendorong pertumbuhan mikroba tersebut (Sara, 2018).

F. Tinjauan Umum Metode Pemeriksaan

1. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri merupakan proses pengambilan bakteri dari medium atau lingkungan asalnya, dan menumbuhkan pada medium buatan sehingga diperoleh biakkan atau kultur murni hasil isolasi tersebut. Populasi bakteri dapat diisolasi menjadi biakkan atau kultur murni, terdiri dari satu jenis bakteri yang dapat dipelajari morfologi, sifat, dan kemampuan biokimianya. Dalam memindahkan bakteri dari satu tempat ke tempat lain harus menggunakan prosedur aseptik. Aseptik dalam hal ini berarti bebas dari sepsis, yaitu kondisi terkontaminasi karena terdapat mikroorganisme lain yang tidak dikehendaki. Teknik aseptik ini sangat penting apabila bekerja dengan bakteri, selain melindungi laboran juga menghindari kontaminasi mikroorganisme lain. Teknik kultur untuk mendapatkan biakkan murni terbagi menjadi tiga macam teknik, yaitu cara penuangan, cara penggoresan, dan cara penyebaran (Ngalih, 2013).

a. Teknik Cawan Tuang (*pour plate*)

Isolasi bakteri dengan cara penuangan bertujuan untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri hidup dalam suatu cairan. Hasil perhitungan jumlah bakteri pada cara penuangan dinyatakan dalam koloni (Irianto, 2012).

b. Teknik Cawan Sebar (*spread plate*)

Metode Pelat Sebar pemisahan dalam metode ini mirip dengan metode injeksi, perbedaannya adalah suspensi sampel disuntikkan ke dalam media kultur. Pemisahan dimulai dengan mengencerkan sampel

dengan setiap tuang. Media yang telah disiapkan dituang ke dalam cawan petri steril. Setelah media memadat, tuangkan suspensi ke dalam cawan petri yang sudah berisi media padat. Suspensi digores dengan batang Drugalsky yang telah disterilkan sebelumnya. Keunggulan dari teknik ini adalah kemampuannya untuk membubarkan mikroba yang tumbuh (Waluyo, 2016).

c. Metode Cawan Gores (*streak plate*)

Isolasi bakteri dengan cara penggosan bertujuan membuat garis sebanyak mungkin pada permukaan medium pembiakkan, dengan jarum ose yang terlepas pada garis-garis tersebut semakin lama semakin sedikit, sehingga pada garis terakhir koloni yang terbentuk akan terpisah agak jauh (Irianto, 2012).

2. Media *Brain- Heart Infusion Broth* (BHIB)

Brain-Heart Infusion Broth (BHIB) adalah medium cair untuk berbagai mikroorganisme baik yang aerob dan anaerob dari bakteri, jamur, dan ragi. Medium ini mendukung pertumbuhan mikroorganisme dengan komposisi pada medium ini, yaitu :

- a. *Brain-heart Infusion solids*
- b. *Enzymatic digest of gelatin*
- c. *Dextrose*
- d. *Sodium Chloride*
- e. *Disodium phosphate*

Nitrogen, vitamin, dan sumber karbon disediakan oleh *Brain- Heart Infusion* dan enzymatic digest dari gelatin di BHI Broth. Dextrose sebagai sumber karbohidrat, dan natrium klorida yang mempertahankan lingkungan osmotik serta disodium phosphate sebagai agen penyangga di media ini (Vanduwinata, 2016).

3. Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Merupakan media pertumbuhan bakteri yang dapat membedakan bakteri pathogen berdasarkan efek exotoksin hemolitik bakteri pada sel darah merah. Media *Blood Agar* bukan merupakan media selektif murni.

Suatu media dikatakan media selektif apabila hanya ditumbuhi beberapa jenis mikroba sementara menghambat pertumbuhan mikroba jenis lain. Media Blood Agar adalah media yang diperkaya dengan nutrisi tambahan yang kaya untuk mikroba. Oleh karena itu, media Blood Agar merupakan media pertumbuhan diperkaya dan selektif diferensial, karena mendukung pertumbuhan berbagai organisme serta dapat memberi ciri yang khas untuk bakteri golongan tertentu (Syafitri, 2020).

Media Blood Agar merupakan media padat dan media diferensial. Media diferensial adalah media yang ditambah zat kimia tertentu sehingga suatu mikroorganisme membentuk pertumbuhan untuk mengklasifikasikan suatu kelompok jenis bakteri. *Blood Agar Plate* (BAP) membedakan bakteri hemolitik dan non hemolitik yaitu berdasarkan kemampuan mereka untuk melisis sel-sel darah merah (Syafitri, 2020).

- 1) Komposisi Media BAP yaitu :
 - a. *Nutrient substrate* : sebagai sumber energi atau nutrisi bagi bakteri
 - b. *Sodium chloride* : sebagai pengatur keseimbangan tekanan osmosis.
 - c. *Agar* : sebagai bahan pematid media (Syafitri, 2020).



Gambar 2.3 Media *Blood Agar Plate*
(Sumber: Syafitri, 2020)

Reaksi pewarnaan gram didasari pada jumlah peptidoglikan yang ditemukan pada dinding sel bakteri tersebut. Bakteri gram positif memiliki banyak lapisan peptidoglikan, yang menyebabkan dapat menahan

molekul-molekul asam-teikoat. Bakteri gram negatif hanya memiliki satu lapisan peptidoglikan tanpa asam-teikoat (Jawetz, 2012).

4. Uji Biokimia

a) *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 H₂S), ekstrak jaringan (substrat protein), 1% sukrosa, dan 0,1 % glukosa (fenol merah) (Sari dkk, 2019).

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 (Sardani dkk, 2015)

b) Uji Katalase

Uji katalase merupakan uji yang digunakan untuk membedakan spesies *Staphylococcus sp* dan *Streptococcus sp*. katalase positif ditunjukkan adanya gelembung gas (O₂) yang diproduksi oleh genus *Staphylococcus sp* (Toella dan Novianti N, 2014). Uji katalase digunakan mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob dapat menguraikan zat toksik tersebut. Penentuan adanya katalase di uji dengan larutan H₂O₂ 3% pada bakteri yang telah dibiakkan. Pada bakteri yang bersifat katalase positif terlihat pembentukan gelembung di dalam tabung reaksi (Rahmi dkk, 2015).