

Pengaruh Penambahan Glukosa terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* pada Media Pemupuk *Nutrient Broth* (NB)

Nurul Hidayati^{[1]*}, Dhika Juliana Sukmana^[2], Pancawati Ariami^[3], Urip^[4], Fihiruddin^[5]

^[1]Rumah Sakit Umum Daerah Dr. R. Soedjono, Selong, Lombok Timur, NTB

^[2] Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Yogyakarta, Sleman, DIY

^[3,4,5] Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Mataram, Mataram, NTB

KEYWORDS:

Glucose, Total colony of *Escherichia coli*, Enrichment media *Nutrient Broth* (NB).

ABSTRACT

Infectious diseases are caused by microorganisms, one of them is Escherichia coli. The process of isolation and identification of bacteria requires enrichment media to increase the number of bacteria. Media Brain Infusion Broth (BHIB) media, the growth of Escherichia coli bacteria is better than Nutrient Broth (NB). Demahui's glucose as a normal source of organic carbon for the growth of Escherichia coli bacteria, while in NB media there is no glucose. This study is quoted to obey the effect of the addition of glucose on the NB fertilizer media on the growth of Escherichia coli bacteria. This study is a pre-experimental study of the addition of 1 gram of glucose, 2 grams, 3 grams, 4 grams and 5 grams of media Nutrient Broth fertilizer media (NB). Termanhan is observed from the number of colonies that grow on the nutrient media so that the plate (NAP). The sample used was the suspension of the pure isolates of the Escherichia coli ATCC 35218. The calculation of the average number of colonies obtained from each treatment was 79, 90, 144, 126, and 103 colonies with a control of 63 colonies. Based on the statistical test one -way ANOVA P value (0,000) < α (0.05) which means there is an influence of the addition of glucose on the growth of Escherichia coli bacteria Nutrient Broth (NB). The optimal concentration of the addition of glucose is 3 grams in 1 L of NB media.

KATA KUNCI:

Glukosa, Jumlah koloni *Escherichia coli*, Media Pemupuk *Nutrient Broth* (NB).

ABSTRAK

Penyakit infeksi disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli*. Proses isolasi dan identifikasi bakteri membutuhkan media pemupuk untuk memperbanyak jumlah bakteri. Pada media pemupuk *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB), pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* lebih bagus dari *Nutrient Broth* (NB). Glukosa diketahui sebagai sumber karbon organik normal untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, sementara pada media NB tidak ditemukan adanya glukosa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan glukosa pada media pemupuk NB terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini merupakan penelitian *pre-eksperimental* dengan penambahan glukosa 1 gram, 2 gram, 3 gram, 4 gram dan 5 gram pada media pemupuk *Nutrient Broth* (NB). Tingkat pertumbuhan diamati dari jumlah koloni yang tumbuh pada media *Nutrient Agar Plate* (NAP). Sampel yang digunakan adalah suspensi dari isolat murni bakteri *Escherichia coli* ATCC 35218. Hasil hitung rata-rata jumlah koloni yang diperoleh dari masing-masing perlakuan adalah 79, 90, 144, 126, dan 103 koloni dengan kontrol 63 koloni. Berdasarkan uji statistik *One way anova* nilai p (0.000) < α (0.05) yang berarti ada pengaruh penambahan glukosa terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media pemupuk *Nutrient Broth* (NB). Konsentrasi optimum penambahan glukosa adalah 3 gram dalam 1 L media NB.

1. PENDAHULUAN

Dokumen ini adalah template untuk Jurnal Sains Natural (JSN). JSN terdiri dari 4 Bab dengan Penyakit infeksi masih merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang,

termasuk Indonesia. Penyakit infeksi disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme salah satunya adalah bakteri. Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi bagi hospes (manusia) dapat ditularkan hampir dimana saja, termasuk di tanah, air, udara, makanan, hewan dan lain-lain (Sacher dan Mc Pherson, 2004; Radji, 2011).

Salah satu bakteri penyebab penyakit infeksi adalah *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan organisme penghuni utama di usus besar, dan merupakan isolat penyebab utama infeksi saluran kemih dan luka infeksi, pneumonia, meningitis serta septisemia. Penelitian-penelitian yang baru juga menunjukkan bahwa galur tertentu dari *Escherichia coli* juga merupakan patogen intestinal dan menyebabkan berbagai penyakit gastrointestinal (FKUB, 2003).

Pengembangan pencegahan dan pengobatan terhadap suatu penyakit infeksi sangat diperlukan. Adapun salah satu metode yang dikemukakan untuk mencegah dan mengobati suatu penyakit infeksi karena suatu bakteri adalah dengan mengidentifikasi penyebab infeksi (Pelczar dan Chan, 2008).

Identifikasi bakteri penyebab infeksi adalah pemeriksaan yang rutin dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi. Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara salah satunya dengan melakukan kultur bakteri menggunakan media perbenihan. Media perbenihan untuk pertumbuhan bakteri yang sesuai harus mengandung semua zat makanan yang diperlukan bakteri agar dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik. Proses identifikasi memerlukan bakteri dalam jumlah banyak pada beberapa pemeriksaan tertentu. Jumlah bakteri kurang dari 10^5 dalam sampel pemeriksaan memerlukan suatu media yang berfungsi untuk memperbanyak atau menumbuhkan bakteri menjadi lebih banyak. Media perbenihan ini disebut media pemupuk (Lay, 1994; Pelczar dan Chan, 2008).

Berdasarkan penelitian Dini Wahyuningsih (2013), menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan media pemupuk *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) lebih baik dari pada dengan menggunakan media pemupuk *Nutrient Broth* (NB) yang dibuktikan dengan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* dari media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) lebih banyak dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* dari media *Nutrient Broth* (NB).

Namun pada kenyataannya kebanyakan laboratorium lebih banyak menggunakan NB sebagai media pemupuk dalam isolasi dan identifikasi bakteri. Hal ini karena dari segi ekonomis harga media pemupuk NB lebih murah dibandingkan dengan media BHIB.

Menurut Marks dkk. (2000) glukosa merupakan sumber karbon organik normal untuk pertumbuhan *Escherichia coli* yang akan dipecah menjadi energi melalui jalur glikolisis menghasilkan 2 molekul ATP yang akan digunakan untuk pertumbuhannya. Pertumbuhan ini akan mengakibatkan pertambahan jumlah individu (bakteri *Escherichia coli*) yang merupakan anggota suatu populasi atau biakan. Semakin banyak sumber makanan maka pertumbuhan sel bakteri akan semakin banyak, sehingga diperoleh jumlah bakteri yang semakin banyak.

Jumlah bakteri yang sangat sedikit di dalam sampel jika di tanam pada media pemupuk NB di khawatirkan pertumbuhannya kurang baik sehingga dengan adanya penambahan glukosa pada media pemupuk NB di harapkan dapat menambah nutrisi untuk pertumbuhan bakteri menjadi lebih optimal.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan *Pre experiment* yang dilakukan di laboratorium untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan terhadap sampel (Notoatmodjo, 2012).

Perlakuan pada penelitian ini sebanyak 6 macam perlakuan dengan menggunakan media pemupuk NB yang ditambahkan glukosa sebanyak 1 gram, 2 gram, 3 gram, 4 gram, dan 5 gram serta media pemupuk NB tanpa penambahan glukosa digunakan sebagai kontrol. Jenis perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- T0 = Media Pemupuk NB tanpa penambahan glukosa (kontrol)
- T1 = Media Pemupuk NB dengan penambahan glukosa 1 gram
- T2 = Media Pemupuk NB dengan penambahan glukosa 2 gram
- T3 = Media Pemupuk NB dengan penambahan glukosa 3 gram
- T4 = Media Pemupuk NB dengan penambahan glukosa 4 gram
- T5 = Media Pemupuk NB dengan penambahan glukosa 5 gram

Unit eksperimen yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* ATCC 35218 dalam bentuk isolat murni.

Data yang dikumpulkan antara lain :

1. Jumlah koloni yang tumbuh pada media *Nutrient Agar Plate* yang berasal dari suspensi bakteri *Nutrient Broth* (NB) standar setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.
2. Jumlah koloni yang tumbuh pada media *Nutrient Agar Plate* (NAP) yang berasal dari suspensi bakteri *Nutrient Broth* (NB) dengan penambahan glukosa 1 gram, 2 gram, 3 gram, 4 gram, dan 5 gram setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Data yang telah dikumpulkan kemudian dianalisis dengan uji statistik *One way anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian pengaruh penambahan glukosa terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media pemupuk *Nutrient Broth* dan hasil uji statistic dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* pada media NAP.

No	Perlakuan	Replikasi/Jumlah Koloni				n	rata
		1	2	3	4		
1	T0	58	62	68	63	251	63
2	T1	79	84	71	82	316	79
3	T2	88	92	91	87	358	90
4	T3	140	132	137	168	577	144
5	T4	126	124	125	128	503	126
6	T5	116	98	102	96	412	103

	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18263.708	3652.742	54.643	.000
Within Groups	1203.250	66.847		
Total	19466.958			

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan terjadi peningkatan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh pada media NAP dari media pemupuk dengan penambahan glukosa dibandingkan dari media pemupuk tanpa penambahan glukosa. Suspensi bakteri *Escherichia coli* dari media pemupuk NB pada setiap perlakuan terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampai 10^{-6} sebelum di tanam ke media NAP. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya penumpukan koloni yang tumbuh supaya memenuhi syarat untuk penghitungan jumlah koloni bakteri yaitu 30-300 koloni, sehingga mempermudah dalam penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP.

Rerata jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP dari media pemupuk NB tanpa penambahan glukosa adalah 63 koloni, dari media pemupuk NB dengan penambahan glukosa 1 gram adalah 79 koloni, media pemupuk NB dengan penambahan glukosa 2 gram adalah 90 koloni, media pemupuk NB dengan penambahan glukosa 3 gram adalah 144 koloni, media pemupuk NB dengan penambahan glukosa 4 adalah 126 koloni, dan media pemupuk NB dengan penambahan glukosa 5 gram adalah 103 koloni.

Berdasarkan hasil uji statistik yang telah dilakukan menggunakan uji *one way anova*, diperoleh nilai $p (0,000) < \alpha (0,05)$ yang berarti ada pengaruh yang signifikan dengan adanya penambahan glukosa terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media pemupuk NB.

Penambahan glukosa dalam penelitian ini dimaksudkan untuk meningkatkan nutrisi pada media pemupuk NB yang menyebabkan terjadinya variasi peningkatan pertumbuhan dengan penambahan glukosa 1 gram, 2 gram, 3 gram, 4 gram, dan 5 gram dalam 1 liter

media NB yang dapat dilihat dengan peningkatan jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP dari media NB dengan penambahan glukosa terhadap media NB tanpa penambahan glukosa.

Hal ini karena glukosa merupakan sumber karbon organik normal untuk pertumbuhan *Escherichia coli*. Glukosa memiliki kandungan gula yang stabil sebagai sumber karbon bagi bakteri. Sumber karbon berperan sebagai nutrisi diperlukan untuk kelangsungan hidup bakteri. Jika nutrisi melimpah, viabilitas juga meningkat dan glukosa dapat digunakan secara langsung tanpa melalui proses penguraian sehingga tidak diperlukan energi tambahan untuk melakukan penguraian glukosa dan dapat digunakan secara utuh. Penambahan glukosa ini sebagai nutrisi tambahan jika nutrisi dalam media pemupuk itu sendiri telah habis sehingga bakteri terus dapat membelah menghasilkan jumlah bakteri yang lebih banyak (Marks dkk., 2000).

Glukosa digunakan sebagai sumber energi mengalami oksidasi menjadi asam piruvat melalui proses glikolisis. Glikolisis merupakan salah satu lintasan paling penting yang digunakan oleh sel untuk menghasilkan energi. Energi yang dihasilkan ini dalam bentuk ATP. Glikolisis tidak mengharuskan adanya oksigen dan bisa terdapat pada sel-sel baik yang aerobik maupun anaerobik (Marks dkk., 2000; Pelczar dan Chan, 2008;)

Penambahan glukosa 1 gram, 2 gram dan 3 gram pada media NB menghasilkan jumlah koloni yang cenderung meningkat. Hal ini terjadi karena penambahan glukosa 1 gram, 2 gram dan 3 gram dapat memberikan tambahan asupan nutrisi yang optimum. Hal ini sejalan dengan penelitian Haryadi dkk (2013) yang dilakukan dengan menambahkan gula dengan konsentrasi gula 0%, 5%, 7,5%, dan 10% untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Hasil yang diperoleh penambahan gula 10% menghasilkan jumlah bakteri asam laktat tertinggi yang menunjukkan semakin tinggi konsentrasi gula maka semakin tinggi tingkat pertumbuhan bakteri.

Keadaan berbeda di temukan pada penambahan glukosa 4 gram dan 5 gram dimana terjadi penurunan jumlah koloni bakteri. Konsentrasi gula yang terlalu tinggi menyebabkan peningkatan tekanan osmosis akibatnya pertumbuhan bakteri menjadi terhambat. Hal ini sesuai menurut Irianto (2006), yang menyatakan bahwa tekanan osmotik yang meningkat menyebabkan keadaan lingkungan yang hipertonis. Suasana hipertonis mengakibatkan cairan dalam sel bakteri tertarik keluar sel, sel mengalami dehidrasi, dan pengkerutan sel (Plasmolisis). Kondisi ini menyebabkan pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat bahkan dapat terjadi kematian sel. Penelitian yang dilakukan oleh Dwi Maryana (2014) menunjukkan bahwa jumlah bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* dengan perlakuan konsentrasi sukrosa 9%, 12%, dan 15%, menyebabkan jumlah bakteri menurun dengan

peningkatan konsentrasi sukrosa. Keadaan ini membuktikan bahwa peningkatan konsentrasi yang semakin tinggi tidak mengharuskan peningkatan jumlah pertumbuhan bakteri, namun dapat terjadi sebaliknya pertumbuhan bakteri akan semakin menurun dengan penambahan gula yang terlalu tinggi karena perubahan lingkungan pertumbuhan bakteri.

Pertumbuhan koloni yang paling optimal diperoleh pada perlakuan penambahan glukosa 3 gram pada media NB dengan jumlah koloni yang paling tinggi dilihat pada media NAP. Hal ini sejalan dengan penelitian Waguriani (2013) yang menunjukkan penambahan glukosa 3 gram pada media *Subaroud Dextrosa Agar* (SDA) menunjukkan hasil yang optimum terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, dan terjadi penurunan jumlah koloni pada penambahan glukosa 4 gram. Walaupun konsentrasi optimum glukosa sama yaitu pada penambahan glukosa 3 gram, namun ada perbedaan pada media penelitian ini. Waguriani (2013) dilakukan penambahan glukosa 3 gram pada media SDA 100 mL dengan mikroorganisme berupa *yeast-like* (*Candida albicans*). *Yeast-like* mempunyai kebutuhan akan karbohidrat yang lebih tinggi dibandingkan dengan kebutuhan karbohidrat pada bakteri.

Penelitian-penelitian diatas menunjukkan jenis mikroorganisme yang berbeda memiliki kebutuhan gula yang berbeda dan tingkat toleransi yang berbeda terhadap berbagai jenis gula. Karena setiap mikroorganisme memiliki tingkat kebutuhan gula yang berbeda untuk pertumbuhannya. Sedangkan pada *Escherichia coli* untuk mendapatkan hasil yang optimal membutuhkan penambahan glukosa 3 gram dalam 1 Liter media NB(0,3%).

Pada penelitian ini tidak diperoleh jumlah koloni yang relati sama pada pengulangan setiap perlakuan. Hal ini sangat terlihat pada perlakuan dengan penambahan glukosa 3 gram replikasi keempat diperoleh jumlah koloni yang tumbuh cukup berbeda dengan replikasi yang lain pada perlakuan yang sama yaitu 168 koloni. Pada replikasi 1 tumbuh 140 koloni, pada replikasi kedua 132 koloni dan replikasi ketiga 137 koloni. Perbedaan ini dapat disebabkan proses pemipetan yang tidak homogen pada saat melakukan pengenceran sehingga diperoleh jumlah koloni yang cukup berbeda.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data dapat ditarik kesimpulan bahwa Ada pengaruh penambahan glukosa terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media pemupuk *Nutrient Broth* (NB), dengan penambahan glukosa 1 gram, 2 gram dan 3 gram pertumbuhan bakteri meningkat dan dengan penambahan glukosa 4 gram dan 5 gram menurun dibanding pertumbuhan optimal.

REFERENSI

- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi Dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Yang Sederajat*. PT Citra Aditya Bakti. Bandung
- Forbes A.B., Sahn F.D., Weissfeld S.A. 2002. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, eleventh edition*. America. The united states of America.
- Hanafiah A. K. 2010. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Rajawali Pers. Jakarta
- Harmita dan Radji, M. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 3*. EGC. Jakarta.
- Haryadi dkk. 2013. Nilai ph dan Jumlah Bakteri Asam Laktat Kefir Susu Kambing Setelah Difermentasi Dengan Penambahan Gula Dengan Lama Inkubasi Yang Berbeda. *Jurnal Medika Veterinaria*. 7(1). Hal. 4-7
- Irianto K. 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme jilid 1*. CV Yrama Widya. Bandung
- James J., Baker C., Swain H. 2008. *Prinsip-Prinsip Sains Untuk Keperawatan*. Erlangga. Jakarta
- Jawetz, Melnick, J.L Adelberg. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran – Buku 1 Edisi 25*. Salemba Medika. Jakarta.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Rajawali Pers. Jakarta
- Lestari. 2012. *Jenis - Jenis Monosakarida*. [www.Lestari.blogspot.com/ artikel.php](http://www.Lestari.blogspot.com/artikel.php). Diakses pada tanggal 2 Februari 2015 pukul 14.00 WITA
- Marks, Dawn B., Marks, Allan D., Smith, Collen M. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar:Sebuah Pendekatan Klinis*. EGC. Jakarta
- Maryana Dwi. 2014. Pengaruh Penambahan Sukrosa Terhadap Jumlah Bakteri Dan Keasaman Whey Fermentasi Dengan Menggunakan Kombinasi *Lactobacillus Plantarum* Dan *Lactobacillus Acidophilus*. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin Makassar
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta. Jakarta
- Pelczar M.J. dan ChanE.C.S.2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Universitas Indonesia (UI Press). Jakarta
- Tim Pusat Laboratorium Kesehatan. 1999. *Good Laboratory Practice*. Pusat Laboratorium Kes Dep.Kes.RI. Jakarta
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi Dan Kedokteran*. EGC. Jakarta
- Sacher A.R., dan Mc Pherson A.R. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium edisi 11*. Alih Bahasa oleh Pendit B.U. dan Wulandari D. EGC. Jakarta

- Safitri R., dan Novel S. S. 2010. *Medium Analisis Mikroorganisme (Isolasi dan Kultur)*. Trans Info Media. Jakarta
- Soemarno. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik*. AAK Yogyakarta Depkes RI. Yogyakarta
- Staf Pengajar FKUI. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara. Jakarta
- Tambayong J. 2000. *Mikrobiologi Untuk Keperawatan*. Widya Medika. Jakarta
- Tim Mikrobiologi FK Unibraw. 2003. *Bateriologi Medik*. Bayumedia Publishing. Malang
- Waguriani L.A. 2013. Pengaruh Penambahan Glukosa Dan Waktu Inkubasi Pada Media SDA (*Sabaroud Dextrose Agar*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans*. *KTI*. Poltekkes Kemenkes Mataram
- Wahyuningsih D. 2013. Perbedaan Efektifitas Media Pemupuk *Nutrient Broth* (NB) dan *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *KTI*. Poltekkes Kemenkes Mataram