

## **POTENSI AIR KELAPA SEBAGAI PENGGANTI PEPTON PADA *EOSIN METHYLENE BLUE AGAR* UNTUK PERTUMBUHAN *Klebsiella* dan *Proteus***

*The Potential of Coconut Water as a Replacement for Pepton in Eosin Methylene Blue Agar for the Growth of Klebsiella and Proteus*

**Zulfikar Ali Hasan, Mursalim, Alfin Resya Virgiawan, Resky Fitriani**  
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar, Indonesia  
Koresponden: [rskyftrian@gmail.com/085947532385](mailto:rskyftrian@gmail.com/085947532385)

### **ABSTRACT**

*Peptone is an important component in microorganism growth media because it provides nitrogen, vitamins, and essential amino acids. However, the high price of peptone and dependence on imports hinder its use. Mature coconut water is known to contain nutrients such as carbohydrates and minerals, making it a potential alternative in growth media. This study aimed to determine the ability of mature coconut water to grow *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* on Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) media. The study was conducted from May 9–23, 2025, at the Bacteriology Laboratory of the Department of Medical Laboratory Technology, Poltekkes Kemenkes Makassar. Mature coconut water samples were obtained from the Sungguminasa Terminal Market, Gowa, and bacterial isolates were from the Microbiology Laboratory of the Faculty of Medicine, Hasanuddin University. The method used was a true experimental method by comparing bacterial growth in control media (standard EMBA) and alternative media (based on mature coconut water). The results showed that mature coconut water could be used to grow both bacteria, although the number and color of colonies differed compared to the control media. In conclusion, mature coconut water cannot optimally replace peptone. It is recommended to test the nutritional content of old coconut water in more detail and vary the concentration in the media formulation to increase the effectiveness of its use.*

**Keywords :** Coconut water, peptone, EMBA, *Klebsiella*, *Proteus*.

### **ABSTRAK**

Pepton merupakan komponen penting dalam media pertumbuhan mikroorganisme karena menyediakan nitrogen, vitamin, dan asam amino esensial. Namun, harga pepton yang tinggi dan ketergantungan pada impor menjadi kendala dalam penggunaannya. Air kelapa tua diketahui mengandung nutrisi seperti karbohidrat dan mineral, sehingga memiliki potensi sebagai bahan alternatif dalam media pertumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan air kelapa tua dalam menumbuhkan *Klebsiella pneumoniae* dan *Proteus mirabilis* pada media Eosin Methylen Blue Agar (EMBA). Penelitian dilaksanakan pada 9–23 Mei 2025 di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar. Sampel air kelapa tua diperoleh dari Pasar Terminal Sungguminasa, Gowa, dan isolat bakteri berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Metode yang digunakan adalah *true experimental* dengan membandingkan pertumbuhan bakteri pada media kontrol (EMBA standar) dan media alternatif (berbasis air kelapa tua). Hasil penelitian menunjukkan bahwa air kelapa tua dapat digunakan untuk menumbuhkan kedua bakteri, meskipun jumlah dan warna koloni berbeda dibandingkan media kontrol. Kesimpulannya, air kelapa tua belum dapat menggantikan fungsi pepton secara optimal. Disarankan untuk menguji kandungan nutrisi air kelapa tua secara lebih rinci dan melakukan variasi konsentrasi dalam formulasi media untuk meningkatkan efektivitas penggunaannya.

**Kata kunci:** Air kelapa tua, pepton, EMBA, *Klebsiella*, *Proteus*

## PENDAHULUAN

Media pertumbuhan merupakan substrat yang mengandung campuran nutrisi esensial yang dibutuhkan oleh mikroorganisme, seperti bakteri, untuk tumbuh dan berkembang. Media ini berfungsi sebagai tempat mikroorganisme memperoleh makanan, vitamin, dan mineral agar mampu melakukan metabolisme serta berkembang biak secara optimal. Dalam bidang mikrobiologi, media pertumbuhan digunakan sebagai standar emas (gold standard) dalam proses diagnosis penyakit infeksi secara pasti (Ramadhan et al., 2021).

Media pertumbuhan dapat diklasifikasikan berdasarkan bentuk fisik, komposisi kimia, dan fungsinya. Berdasarkan bentuknya, media terbagi menjadi media cair, semi padat, dan padat. Media padat seperti Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) sangat penting karena memungkinkan pengamatan koloni bakteri secara langsung, yang menjadi dasar untuk identifikasi dan diferensiasi mikroorganisme. Berdasarkan komposisinya, media dibagi menjadi media alami, sintetik, dan semi-sintetik. Berdasarkan fungsinya, terdapat media basal, selektif, diferensial, dan non-selektif (Kusumo et al., 2022).

EMBA merupakan media selektif dan diferensial yang digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan kemampuan fermentasi laktosa. Komposisi EMBA meliputi pepton, laktosa, dipotassium phosphate, eosin Y, methylene blue, dan agar (Kasiyati Menik et al., 2023).

Pepton dalam media ini berperan sebagai sumber utama nitrogen dan asam amino, yang penting dalam sintesis protein bakteri. Namun, pepton sering kali menjadi komponen media yang paling mahal dan tergantung pada impor (Atma et al., 2018).

Oleh karena itu, diperlukan alternatif bahan yang lebih ekonomis dan mudah diperoleh, tanpa mengurangi kualitas media dalam mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Salah satu sumber daya alam yang potensial untuk menggantikan pepton adalah air kelapa.

Indonesia sebagai produsen kelapa terbesar di dunia memiliki potensi besar

dalam pemanfaatan air kelapa sebagai sumber nutrisi mikroba. Air kelapa diketahui mengandung gula, protein, lemak, serta unsur makro seperti karbon dan nitrogen dalam bentuk karbohidrat sederhana dan asam amino (Sartika et al., 2019). Kandungan protein dalam air kelapa dapat dihidrolisis menjadi bentuk yang lebih sederhana seperti pepton, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai komponen media pertumbuhan.

Beberapa penelitian terdahulu telah menunjukkan bahwa air kelapa tua mampu mendukung pertumbuhan berbagai mikroorganisme. Yolanda et al. (2011) dan Artauli et al. (2023) menunjukkan bahwa media berbasis air kelapa tua dapat mendukung pertumbuhan *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan bakteri lain dengan hasil yang mendekati media standar.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi air kelapa sebagai pengganti pepton dalam media Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Proteus mirabilis*. *Klebsiella* dipilih karena merupakan bakteri Gram negatif yang mampu memfermentasi laktosa, sedangkan *Proteus* merupakan bakteri Gram negatif yang tidak memfermentasi laktosa. Penggunaan kedua jenis bakteri ini bertujuan untuk menguji efektivitas media air kelapa dalam membedakan bakteri fermentatif dan non-fermentatif laktosa. Sehingga penelitian ini, akan menguji penggunaan air kelapa sebagai media alternatif pengganti pepton pada *Eosin Methylen Blue Agar* untuk pertumbuhan *Klebsiella* dan *Proteus*.

Berdasarkan hal tersebut, tujuan dari penelitian ini adalah Untuk mengetahui apakah air kelapa dapat digunakan sebagai pengganti pepton pada *Eosin Methylen Blue Agar* untuk pertumbuhan *Klebsiella* dan *Proteus*.

## METODE Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian true eksperimen, karena penelitian ini melibatkan manipulasi variabel secara langsung dengan

membandingkan media *Eosin Methylen Blue Agar* standar yang mengandung pepton dengan media *Eosin Methylen Blue Agar* yang menggunakan air kelapa sebagai sumber nitrogen alternatif. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar pada tanggal 9 - 23 Mei 2025.

### **Jumlah dan cara pengambilan subjek atau bahan dan alat**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelapa tua di Pasar Terminal Sungguminasa, Bonto Bontoa, Kec. Sombu Opu, Kabupaten Gowa.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah air kelapa tua yang segar.

Bakteri *Klebsiella* dan *Proteus* digunakan sebagai mikroorganisme uji untuk melihat bakteri ini dapat tumbuh pada media alternatif air kelapa.

Pengulangan yang dilakukan pada tiap sampel sebanyak 3 kali (triplo) sehingga sampel yang akan dibuat adalah 8 sampel yang akan dikerjakan.

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain *autoclave*, cawan petri, ose, erlenmeyer, batang pengaduk, inkubator, neraca analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet ukur, pipet tetes, oven, lampu spritus, mikroskop, batang bengkok, mikropipet dan kertas saring.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain, media EMBA, strain murni *Klebsiella* dan *Proteus*, air kelapa tua, aquadest, agar bacto, laktosa, kalium difosfat, eosin Y, metylen biru, HCL 0,1 N, NAOH 0,1 N, kertas Ph, cg, lugol, alkohol 90%, safranin, SIM (sulfide, indole, motility), urease slant, simmons citrate agar, MR-VP broth, triple sugar iron (TSI) agar, kovac's reagent, reagen methyl red, dan reagen voges-proskauer ( $\alpha$ -naftol & KOH 40%).

### **Langkah-Langkah Penelitian**

Pembuatan Media Eosin Methylen Blue Agar (Kontrol)

Prosedur pembuatan media EMBA dimulai dengan menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan, seperti gelas ukur,

timbangan analitik, Erlenmeyer, dan cawan Petri, yang terlebih dahulu dibersihkan dan disterilkan. Sebanyak 1,44 gram bubuk EMBA ditimbang dan dilarutkan dalam 40 mL aquadest di dalam Erlenmeyer, kemudian dipanaskan menggunakan api spiritus atau hot plate sambil diaduk hingga larut merata tanpa endapan. Setelah larutan homogen, dilakukan pengukuran pH, dan apabila terlalu asam ditambahkan NaOH 0,1 N, sedangkan jika terlalu basa ditambahkan HCl 0,1 N hingga pH mencapai kisaran netral 6,8–7,2. Erlenmeyer kemudian ditutup menggunakan kapas kasa, diberi label, dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Setelah sterilisasi, media didinginkan hingga suhu 45–50°C dan dituangkan secara aseptis ke dalam cawan Petri steril sebanyak 15–20 mL per cawan, lalu dibiarkan memadat pada suhu ruang.

Pembuatan media alternatif Air Kelapa

Pembuatan media menggunakan air kelapa tua diawali dengan pemilihan air kelapa tua segar yang kemudian disaring untuk menghilangkan kotoran. Selanjutnya ditimbang masing-masing komponen media, yaitu *agar* sebanyak 1,5 gram, *lactose* 0,95 gram, *dipotassium phosphate* 0,19 gram, *eosin Y* 0,038 gram, dan *methylene blue* 0,006175 gram, kemudian seluruh komponen dicampurkan ke dalam 95 mL air kelapa tua. Campuran tersebut diaduk hingga homogen, lalu dilakukan penyesuaian pH menjadi 6,8 hingga 7,2 dengan menambahkan larutan *NaOH* 0,1 N secara bertahap apabila pH terlalu asam, atau *HCl* 0,1 N apabila terlalu basa. Setelah pH sesuai, larutan dipanaskan hingga seluruh bahan larut sempurna, kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi selesai dan media telah mencapai suhu ruang, media dituangkan ke dalam *petri dish* steril dan dibiarkan mengeras sebelum digunakan untuk proses inokulasi.

Pembuatan Standar *Mc Farland* 0,5 ,

Sebanyak 9,95 mL larutan  $H_2SO_4$  1% dicampurkan dengan 0,05 mL larutan  $BaCl_2$  1%, kemudian dihomogenkan hingga tercampur sempurna. Larutan hasil campuran tersebut selanjutnya diukur

menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm. Nilai absorbansi yang diharapkan berada pada rentang 0,08 hingga 0,10, sebagai standar klarifikasi untuk memastikan larutan sesuai digunakan dalam tahap analisis selanjutnya. Penanaman pada media Eosin Methylen Blue Agar (Kontrol) dan Media Alternatif

Inokulasi bakteri *Klebsiella Pneumoniae* dan *Proteus Mirabilis* pada media. Biakan murni *Klebsiella Pneumoniae* dan *Proteus Mirabilis* terlebih dahulu disubkultur dalam Brain Heart Infusion Broth (BHIB) dan diinkubasi selama 24 jam untuk memperbanyak sel bakteri. Setelah inkubasi, suspensi bakteri diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis steril dan disesuaikan tingkat kekeruhannya menggunakan standar *McFarland* 0,5. Suspensi kemudian diencerkan lebih lanjut hingga  $10^{-4}$  untuk memperoleh jumlah koloni yang terpisah dan dapat dihitung. Sebanyak 0,1 mL suspensi hasil pengenceran ditetaskan ke permukaan media *Eosin Methylen Blue Agar* dan media alternatif Air Kelapa, kemudian diratakan dengan metode sebar menggunakan L-spreader. Inokulasi dilakukan secara aseptik di dekat nyala bunsen, dan media diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Pengamatan dan perhitungan koloni bakteri

Pengamatan makroskopis dilakukan terhadap koloni. *Klebsiella Pneumoniae* dan *Proteus Mirabilis* yang tumbuh pada media, meliputi bentuk, warna, morfologi koloni, perhitungan koloni, dan pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram dengan membuat sediaan bakteri pada kaca objek, dikeringkan, lalu diberi pewarna kristal violet, lugol, alkohol 96%, dan safranin secara berurutan. Sediaan kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000×.

Melanjutkan ke Uji Biokimia

Isolat bakteri yang telah tumbuh di media EMBA maupun media alternatif selama 18–24 jam diambil dengan ose steril dan diinokulasikan ke media SIM, TSI, Citrate, Urease, dan MR-VP, lalu diinkubasi pada 35–37°C selama 24–48 jam. Setelah itu, ditambahkan reagen sesuai jenis uji, seperti Kovac's untuk indole, serta Methyl Red dan Voges-Proskauer untuk MR-VP, kemudian

diamati perubahan warna, gas, endapan, atau pola pertumbuhan untuk mengidentifikasi karakteristik biokimia isolat.

### Pengolahan dan analisis data

Data hasil penelitian yang diperoleh kemudian diolah menggunakan teknik analisis deskriptif, yang bertujuan untuk menggambarkan ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media alternatif *Eosin Methylen Blue Agar*. Hasil pengamatan tersebut kemudian dibandingkan dengan pertumbuhan bakteri pada media *Eosin Methylen Blue Agar* sebagai media kontrol. Melalui analisis deskriptif ini, penelitian dapat memberikan gambaran yang jelas mengenai efektivitas media alternatif dalam mendukung atau menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella* dan *Proteus* dibandingkan dengan media standar.

## HASIL

**Tabel 4. 1 Karakteristik Bakteri *Klebsiella Pneumoniae* Secara Makroskopis**

| P  | Jumlah Koloni | Bentuk Koloni         | Warna Koloni | Diameter |
|----|---------------|-----------------------|--------------|----------|
| 1. | 250           | Bulat teratur, mukoid | Merah mudah  | 2 mm     |
| 2. | 300           | Bulat teratur, mukoid | Merah mudah  | 2 mm     |
| 3. | 290           | Bulat teratur, mukoid | Merah mudah  | 2 mm     |
| K  | 350           | Bulat teratur, mukoid | Merah mudah  | 2 mm     |

Ket : P =Pengulangan, K=Kontrol

Sumber : Data Primer 2025

Berdasarkan Tabel 4.1 mengenai karakteristik makroskopis *Klebsiella pneumoniae*, diketahui bahwa koloni yang tumbuh pada media perlakuan (air kelapa sebagai pengganti pepton) memiliki jumlah koloni yang bervariasi, yaitu 250 koloni pada pengulangan pertama, 300 koloni pada pengulangan kedua, dan 290 koloni pada pengulangan ketiga. Seluruh koloni

menunjukkan morfologi yang seragam, yaitu berbentuk bulat teratur dan bersifat mukoid (penampilan berlendir, licin, dan mengkilap). Warna koloni pada media perlakuan tampak merah muda dengan diameter rata-rata sebesar 2 mm. Sementara itu, pada media kontrol (EMBA standar), jumlah koloni tercatat sebanyak 350, dengan bentuk dan tekstur koloni yang sama, namun warna koloni tampak ungu tua dengan diameter yang juga sebesar 2 mm.

**Tabel 4. 2 Hasil Uji Biokimia Bakteri *Klebsiella Pneumoniae***

| P | Tsia                                     | Urea | Indol | MR | VP | SC |
|---|------------------------------------------|------|-------|----|----|----|
| 1 | A/A<br>Ga,<br>H <sub>2</sub><br>S<br>(-) | +    | -     | -  | +  | +  |
| 2 | A/A<br>Gas<br>H <sub>2</sub><br>S<br>(-) | +    | -     | -  | +  | +  |
| 3 | A/A<br>Gas<br>H <sub>2</sub><br>S<br>(-) | +    | -     | -  | +  | +  |
| K | A/A<br>Gas<br>H <sub>2</sub><br>S<br>(-) | +    | -     | -  | +  | +  |

**Ket :** A/A = Acid/Acid (Kuning), H<sub>2</sub>S = Gas, MR = Methyl Red, VP = Voges Proskauer, SC = Simmon Citrat, Urea = Urease, P = Pengulangan, K=Kontrol

Sumber : Data Primer 2025

Berdasarkan hasil uji biokimia yang ditampilkan pada Tabel 4.2, isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* dari media alternatif berbasis air kelapa (pengulangan 1, 2, dan 3) menunjukkan pola reaksi biokimia yang serupa dengan isolat pada media kontrol (EMBA). Uji TSIA menunjukkan reaksi Acid/Acid disertai pembentukan gas yang mengindikasikan bahwa bakteri mampu memfermentasi laktosa, sukrosa dan glukosa. Hal ini sesuai dengan karakter *Klebsiella pneumoniae* yang dikenal sebagai bakteri fermenter laktosa. Selain itu, uji urease, sitrat, dan Voges Proskauer

menunjukkan hasil positif (+), sedangkan uji indol dan Methyl Red menunjukkan hasil negatif (-), yang merupakan ciri khas profil biokimia dari *Klebsiella pneumoniae*.

**Tabel 4. 3 Pengamatan Bakteri *Klebsiella Pneumoniae* Secara Mikroskopis**

| Media           | Hasil Pewarnaan Gram | Bentuk Sel | Ket.                  |
|-----------------|----------------------|------------|-----------------------|
| EMBA Air Kelapa | Gram Negatif         | Basil      | Sesuai Dengan Isolate |
| EMBA Kontrol    | Gram Negatif         | Basil      | Sesuai Dengan Isolate |

Berdasarkan Tabel 4.3, hasil pengamatan mikroskopis terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang ditumbuhkan pada media EMBA berbasis air kelapa dan media EMBA kontrol menunjukkan hasil pewarnaan Gram negatif serta bentuk sel basil. Kedua media menunjukkan karakter morfologi dan pewarnaan yang konsisten dengan isolate *Klebsiella pneumoniae* yang digunakan.

**Tabel 4. 4 Karakteristik Bakteri *Proteus Mirabilis* Secara Makroskopis**

| P  | Jumlah Koloni | Bentuk Koloni                             | Warna Koloni | Diameter |
|----|---------------|-------------------------------------------|--------------|----------|
| 1. | 17            | Bulat, Permukaan Halus Dan Tampak Cembung | Merah mudah  | 3 mm     |
| 2. | 8             | Bulat, Permukaan Halus Dan Tampak Cembung | Merah mudah  | 4 mm     |
| 3. | 8             | Bulat, Permukaan Halus Dan Tampak Cembung | Merah mudah  | 4 mm     |
| K  | 18            | Bulat, Permukaan Halus                    | Putih pucat  | 3 mm     |

Dan  
Tampak  
Cembung

**Ket :** P =Pengulangan, K=Kontrol

Sumber : Data Primer 2025

Berdasarkan Tabel 4.4 mengenai karakteristik makroskopis *Proteus mirabilis*, diketahui bahwa koloni bakteri yang tumbuh pada media perlakuan menunjukkan bentuk bulat dengan permukaan halus dan tampak cembung. Warna koloni pada seluruh pengulangan tampak merah muda dengan diameter rata-rata 3–4 mm. Jumlah koloni bervariasi, yaitu sebanyak 17 koloni pada pengulangan pertama, serta masing-masing 8 koloni pada pengulangan kedua dan ketiga. Sementara itu, pada media kontrol, koloni juga berbentuk bulat dengan permukaan halus dan tampak cembung, namun memiliki warna putih pucat dan diameter sebesar 3 mm, dengan jumlah koloni sebanyak 18.

**Tabel 4. 5 Hasil Uji Biokimia Bakteri *Proteus Mirabilis***

| P | Tsia                                     | Ure | Indo | M | V | S |
|---|------------------------------------------|-----|------|---|---|---|
|   |                                          | a   | l    | r | p | c |
| 1 | K/A<br>Gas<br>H <sub>2</sub><br>S<br>(+) | +   | -    | + | - | + |
| 2 | K/A<br>Gas<br>H <sub>2</sub><br>S<br>(+) | +   | -    | + | - | + |
| 3 | K/A<br>Gas<br>H <sub>2</sub><br>S<br>(+) | +   | -    | + | - | + |
| K | K/A<br>Gas<br>H <sub>2</sub><br>S<br>(+) | +   | -    | + | - | + |

**Ket :** K/A = Alkali/Acid (Merah/Kuning), H<sub>2</sub>S = Gas, MR = Methyl Red, VP = Voges Proskauer, SC = Simmon Citrat, Urea = Urease

Sumber : Data Primer 2025

Berdasarkan hasil uji biokimia yang disajikan pada Tabel 4.5, isolat *Proteus mirabilis* menunjukkan karakteristik biokimia yang khas pada berbagai media uji. Pada media TSIA, bakteri menghasilkan

reaksi Alkali/Acid disertai produksi gas dan endapan hitam (H<sub>2</sub>S positif). Uji urease memberikan hasil positif, memperlihatkan kemampuan cepat *Proteus mirabilis* dalam menghidrolisis urea menjadi amonia, yang menyebabkan medium berubah menjadi ungu. Uji indol negatif membedakannya dari *Protesu vulgaris*, mengonfirmasi bahwa isolat ini memang *Proteus Mirabilis*. Reaksi Methyl Red (MR) positif menunjukkan jalur fermentasi asam campuran, sementara uji Voges–Proskauer (VP) negatif menandakan tidak digunakannya jalur butanediol. Selain itu, uji Simmons citrate juga positif, membuktikan bahwa isolat mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

**Tabel 4. 6 Pengamatan Bakteri *Proteus Mirabilis* Secara Mikroskopis**

| Media           | Hasil Pewarnaan Gram | Bentuk Sel | Ket.                  |
|-----------------|----------------------|------------|-----------------------|
| EMBA Air Kelapa | Gram Negatif         | Basil      | Sesuai Dengan Isolate |
| EMBA Kontrol    | Gram Negatif         | Basil      | Sesuai Dengan isolat  |

Sumber : Data Primer 2025

Berdasarkan Tabel 4.6, hasil pengamatan mikroskopis terhadap bakteri *Proteus Mirabilis* yang ditumbuhkan pada media EMBA berbasis air kelapa dan media EMBA kontrol menunjukkan hasil pewarnaan Gram negatif serta bentuk sel basil. Kedua media menunjukkan karakter morfologi dan pewarnaan yang konsisten dengan isolat *Proteus Mirabilis* yang digunakan.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan menguji potensi air kelapa tua sebagai pengganti pepton dalam media EMBA untuk pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dan *Proteus mirabilis*. Air kelapa dipilih karena lebih ekonomis dibandingkan pepton, sementara EMBA digunakan karena bersifat selektif-diferensial untuk membedakan bakteri Gram negatif berdasarkan fermentasi laktosa.

Menurut Damayanti et al. (2020) Untuk menguji efektivitas media digunakan

metode inokulasi sebar, karena metode ini dinilai efektif untuk menumbuhkan dan menghitung koloni bakteri secara merata pada media padat. Setelah proses inkubasi, dilakukan uji penegasan terhadap isolat bakteri meliputi pengamatan makroskopis koloni, pewarnaan Gram untuk melihat struktur dinding sel, serta uji biokimia guna memastikan karakteristik fisiologis dari masing-masing spesies bakteri.

Pengamatan terhadap *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan jumlah koloni pada media air kelapa tua lebih sedikit (250–300 koloni) dibanding EMBA kontrol (350 koloni). Hal ini diduga akibat kandungan nitrogen dan protein dalam air kelapa yang lebih rendah dan tidak konsisten. Pepton dalam EMBA menyediakan sekitar 0,3 gram nitrogen organik per liter, sementara air kelapa tua hanya mengandung sekitar 0,32 gram nitrogen total dan 0,11 gram dari *true protein* yang tersedia bagi bakteri (Margata et al., 2015). Jumlah ini tidak mencukupi untuk pertumbuhan optimal, sehingga menyebabkan berkurangnya jumlah koloni. Hasil ini juga didukung oleh penelitian Artauli et al. (2023), yang melaporkan jumlah koloni *Salmonella typhi* lebih rendah pada media berbasis air kelapa dibandingkan MacConkey agar akibat perbedaan komposisi nutrisi.

Perbedaan warna koloni *Klebsiella pneumoniae* antara media EMBA kontrol dan media berbasis air kelapa tua disebabkan oleh perbedaan kandungan nutrisi, khususnya nitrogen. Pada EMBA kontrol, fermentasi laktosa oleh bakteri menghasilkan asam yang menurunkan pH, memicu perubahan warna indikator eosin Y dan methylene blue, sehingga koloni tampak ungu tua. Sebaliknya, pada media air kelapa tua, meskipun mengandung laktosa, rendahnya kandungan nitrogen dan nutrisi pendukung fermentasi menyebabkan produksi asam tidak optimal, sehingga indikator tidak berubah sempurna dan koloni tampak merah muda. Kekurangan nitrogen ini menghambat proses fermentasi dan metabolisme bakteri, termasuk kemampuannya dalam menghasilkan perubahan pH yang cukup untuk memicu reaksi warna.

Meskipun terdapat perbedaan jumlah dan warna koloni, bentuk serta ukuran koloni *Klebsiella pneumoniae* pada media alternatif berbasis air kelapa tua tetap serupa dengan media EMBA kontrol, yaitu bulat teratur, mukoid (licin, berlendir, dan mengkilap), dengan diameter sekitar 2 mm. Hal ini sesuai dengan temuan Made Deddy et al. (2023) yang melaporkan bentuk koloni *Klebsiella* yang serupa, berkisar 2–5 mm. Kesamaan ini menunjukkan bahwa air kelapa tua masih mengandung nutrisi dasar seperti glukosa, mineral, dan sedikit asam amino yang cukup untuk mendukung pembentukan struktur koloni. Secara mikroskopis, hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa *Klebsiella pneumoniae* berbentuk basil dan berwarna merah, menandakan sifat Gram negatif, sejalan dengan laporan Ramaditya et al. (2018). Uji biokimia juga mendukung identifikasi ini, di mana hasil TSIA menunjukkan fermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa (A/A, gas), uji SIM menunjukkan hasil negatif untuk H<sub>2</sub>S, indol, dan motilitas, serta uji MR-VP memberikan hasil MR negatif dan VP positif. Hasil ini konsisten dengan penelitian Patilaya et al. (2019) yang menyebutkan bahwa *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan reaksi biokimia serupa.

Pengamatan makroskopik menunjukkan pertumbuhan *Proteus mirabilis* pada media air kelapa tua jauh lebih rendah—17 koloni pada ulangan pertama dan 8 koloni pada ulangan kedua serta ketiga—dibandingkan EMBA kontrol yang mencapai 18 koloni. Rendahnya jumlah ini diduga karena kandungan nitrogen air kelapa tua yang tidak konsisten dan jauh di bawah pepton EMBA (10 g/L menyediakan  $\pm 0,3$  g N organik). Margata et al. (2015) melaporkan air kelapa tua hanya mengandung  $\pm 0,32$  g N total/L, dengan 0,11 g/L berupa *true protein* yang dapat dimanfaatkan bakteri, sehingga tidak memenuhi kebutuhan nutrisi optimal *P. mirabilis*. Selain itu, keberadaan asam organik—seperti sitrat, tartarat, dan malat—yang terlarut dalam air kelapa dapat menurunkan pH mikrolingkungan dan menekan pertumbuhan; Sathiyavimal et al. (2014) bahkan mencatat penurunan populasi *Proteus*  $\pm 25\%$  pada media berbasis kelapa. Dengan demikian,

kombinasi defisiensi nitrogen dan efek asam organik menyebabkan media alternatif ini kurang mendukung pertumbuhan *P. mirabilis* dibandingkan EMBA standar.

Perbedaan warna koloni *Proteus mirabilis* juga diamati, di mana koloni pada media air kelapa tua tampak merah muda, sedangkan pada EMBA kontrol berwarna putih pucat, meskipun keduanya mengandung laktosa dan indikator pH yang sama. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh komposisi alami air kelapa tua yang mengandung asam organik seperti tartarat, sitrat, dan malat, serta gula lain seperti glukosa dan sukrosa. Senyawa-senyawa ini dapat memengaruhi pH mikro di sekitar koloni dan memicu perubahan warna indikator secara berbeda. Penemuan ini didukung oleh penelitian Sathiyavimal et al. (2014) yang menyatakan bahwa media berbasis kelapa dapat menghasilkan tampilan koloni yang tidak identik dengan media standar karena sifat komposisinya yang kompleks dan tidak terstandarisasi.

Dari segi morfologi, koloni *Proteus mirabilis* pada media air kelapa tua dan EMBA kontrol menunjukkan kesamaan, yaitu berbentuk bulat, permukaan halus, cembung, dengan diameter 3–5 mm. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun nutrisi dalam air kelapa tua terbatas, kandungan dasar seperti gula dan mineral masih mampu mendukung pembentukan struktur koloni khas *P. mirabilis*. Temuan ini sesuai dengan laporan Hanna Yolanda (2011) yang menyebutkan bahwa koloni *Proteus* umumnya berbentuk bulat, halus, cembung, dan berdiameter dalam kisaran tersebut.

Berdasarkan pengamatan mikroskopis, *Proteus mirabilis* tampak berbentuk basil dan berwarna merah setelah pewarnaan Gram, menunjukkan bahwa bakteri ini bersifat Gram negatif. Hal ini sesuai dengan teori Erniawati et al. (2020) yang menyebutkan bahwa *P. mirabilis* merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek, dan tidak berspora. Identifikasi ini diperkuat oleh hasil uji biokimia yang menunjukkan karakter khas *P. mirabilis*, seperti reaksi alkali/acid (lereng merah, dasar kuning) dengan produksi gas dan endapan hitam ( $H_2S$  positif) pada media

TSIA, urease positif, indol negatif, serta citrate positif. Hasil ini sejalan dengan Alimsardjono et al. (2015), yang menjelaskan bahwa *P. mirabilis* mampu memfermentasi glukosa, menghasilkan  $H_2S$ , cepat menghidrolisis urea menjadi amonia, dan memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon, serta dapat dibedakan dari *Proteus vulgaris* melalui uji indol yang menunjukkan hasil negatif.

## KESIMPULAN

1. Media alternatif ini mampu mendukung pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dengan ciri koloni berwarna ungu keunguan.
2. *Proteus mirabilis* juga dapat tumbuh pada media berbasis air kelapa tua, namun jumlah koloninya lebih sedikit dibandingkan media kontrol.
3. Terdapat perbedaan jumlah dan warna koloni antara media alternatif dan media kontrol, sehingga air kelapa tua belum dapat menggantikan pepton secara optimal.

## SARAN

1. Sebaiknya dilakukan analisis kandungan nutrisi air kelapa tua terlebih dahulu untuk memastikan kecukupan dan konsistensi nutrisi sebelum digunakan sebagai pengganti pepton.
2. Disarankan menguji efektivitas media dengan variasi konsentrasi air kelapa (100%, 50%, dan 20%) untuk menentukan konsentrasi paling optimal.
3. Penelitian dapat dikembangkan lebih lanjut dengan menguji media alternatif ini terhadap jenis bakteri lain, baik fermentatif maupun non-fermentatif

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada kedua orang tua, dosen pembimbing, dan teman-teman mahasiswa yang telah berkontribusi dalam penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Makassar, Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, seluruh Dosen, dan Staf Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang telah

mendukung dan memberikan bimbingan kepada peneliti agar penelitian yang dilakukan berjalan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alimsardjono, L., Purwono, P. B., Endraswari, P. D., Kusumaningrum, D., & Mertaniasih, N. M. (2015). Pemeriksaan Mikrobiologi pada penyakit infeksi. Jakarta: Sagung Seto.
- Artauli, S., Toruan, L., Manu, T. T., Evriarti, P. R., & Ikhsanita, Z. (2023). Pemanfaatan Air Kelapa Muda Sebagai Media Alternatif Mac Conkey Untuk Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *JoIMedLabS*, 4(1), 25–36.
- Atma, Y., Taufik, M., & Seftiono, H. (2018). Identifikasi resiko titik kritis kehalalan produk pangan: studi produk bioteknologi. *Jurnal Teknologi*, 10(1), 59-66.
- Damayanti, N. W. E., Abadi, M. F., & Bintari, N. W. D. (2020). Perbedaan Jumlah Bakteriuri Pada Wanita Lanjut Usia Berdasarkan Kultur Mikrobiologi Menggunakan Teknik Cawan Tuang Dan Cawan Sebar. *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, 8(1), 1–4.
- Erlinawati, E., & Putri, S. K. (2022). Identifikasi bakteri patogen pada jajanan telur gulung yang dijual di Kecamatan Syiah Kuala Banda Aceh. *Jurnal SAGO Gizi dan Kesehatan*, 4(1), 58-63.
- Kasyati, M., Raudah, S., Maulani, Y., Ismawatie, E., Eva, R.K., Supriyanta, B., Fusvita, A., Martsningsih, A.M., Yashir, M., Mulyanto, A., Amin, A., Mlau, J. (2023) Pengetahuan Media Untuk Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis. Jawa Tengah : Eureka Media Aksara
- Margata, L., Sinaga, S. M., & Putra, E. D. L. (2015). Analisis kadar protein total dan non protein nitrogen pada air dan daging buah kelapa (*Cocos nucifera* L.) dengan metode Kjeldahl [Skripsi, Universitas Sumatera Utara].
- Patilaya, P., Husori, D.I., & Marhafanny, L. (2019). Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* isolated from pus specimens of post-surgery patients in Medan, Indonesia to selected antibiotics. Open access Macedonian journal of medical sciences, 7(22), 3861.
- Ramadhan, W., Juariah, S., & Ryani, V. O. (2021). Potensi ubi jalar putih (*Ipomoea batatas* linneaus varietas) sebagai media alternatif pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 10(1), 23-26.
- Ramaditya, N. A., Tono PG, K., Suarjana, I. G. K., & Besung, I. N. K. 2018. Isolasi *Klebsiella* Sp. Pada Sapi Bali Berdasarkan Tingkat Kedewasaan Dan Lokasi pemeliharaan Serta Pola Kepekaan Terhadap Antibakteri. *Buletin Veteriner Udayana*, 10(1), 26.
- Sartika, F. (2019). DAYA HAMBAT AIR KELAPA (*Cocos nucifera*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. In *Jurnal Surya Medika* (Vol. 4, Issue 2).
- Sathiyavimal, S., Vasantharaj, S., Jagannathan, S., Senthilkumar, R. P., & Vijayaram, S. (2014). Natural sources of coconut component used for microbial culture medium (NSM). *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 26(2), 28-32.