

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Telaah Pustaka

##### 1. Bakteri *Enterococcus faecalis*

###### a. Klasifikasi

Kingdom : *Bacteria*

Filum : *Firmicutes*

Kelas : *Bacili*

Ordo : *Lactobacillales*

Famili : *Enterococcaceae*

Genus : *Enterococcus*

Species : *Enterococcus faecalis* (NCBI, 2003)

###### b. Morfologi dan Karakteristik

*Enterococcus faecalis* adalah bakteri kokus gram positif, fakultatif anaerob, fermentative dan tidak membentuk spora. *Enterococcus faecalis* berbentuk ovoid dan dalam karakteristiknya kadang tunggal, berpasangan atau membentuk rantai yang pendek dan biasanya mengalami elongasi pada arah rantai dengan diameter 0,5-1 $\mu$ m. Kebanyakan strainnya nonhemolitik dan nonmotile. Pada agar darah, permukaan koloni berbentuk bulat, menonjol, halus, agak cembung dan menyeluruh (Wardhana, dkk., 2008). Koloni bakteri berwarna kelabu dan berukuran kecil 0,5 – 1 mm dengan hemolisis-alfa kuat atau lemah.

Hemolisis-alfa merupakan suatu bentuk hemolisis yang tidak sempurna, menghasilkan suatu zona hijau disekitar koloni.

Bakteri *Enterococcus faecalis* bersifat fakultatif anaerob, mempunyai kemampuan untuk hidup dan berkembang biak dengan oksigen maupun tanpa oksigen. *Enterococcus faecalis* merupakan mikroorganisme yang dapat bertahan dalam lingkungan yang sangat ekstrim, termasuk pH yang sangat alkalis dan konsentrasi garam yang tinggi. Bakteri ini mengkatabolisme berbagai sumber energi antara lain karbohidrat, gliserol, laktat, malate, sitrat, arginin, agmatin dan asam  $\alpha$  keto lainnya. *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri chemoreganotrophic, dengan kebutuhan nutrisi umumnya kompleks. Bakteri memperoleh energi dari oksidasi senyawa anorganik tereduksi seperti amonia, unsur sulfur, hidrogen, ion besi, nitrit dan sulfur. Bakteri dari genus *Enterococcus* memiliki metabolisme fermentasi, mampu memfermentasi berbagai macam substrat. Rute utama produksi energi adalah pembentukan asam laktat yang homofermentatif terutama dari glukosa. Dalam kondisi aerob, glukosa dimetabolisme menjadi asam asetat, asetat, dan CO<sub>2</sub> (Nurdin dan Mieke, 2013).

*Enterococcus faecalis* memiliki dinding sel dengan struktur kimia yang lebih sederhana dibandingkan dengan struktur kimia dinding sel bakteri gram positif lainnya. Dinding sel bakteri gram positif pada umumnya terdiri dari 3 lapisan yaitu kapsul, peptidoglikan dan membran sitoplasma. Namun, dinding sel bakteri *Enterococcus*

*faecalis* terdiri dari 2 lapisan yaitu peptidoglikan dan membran sitoplasma. Dinding sel bakteri ini mengandung gula amino (15-20%) lebih banyak, tidak ada lipid dan sedikit asam amino. Lapisan peptidoglikan terdiri dari N-acetylmuramic dan N-acetylglucosamine, serta terikat dengan rantai peptide (Sari, 2014). Dinding sel bakteri gram positif memiliki ketebalan 15 - 80 nm yang tersusun oleh lapisan tebal peptidoglikan dan memiliki kandungan utama asam teikoat dan asam teikuronik yang berikatan dengan peptidoglikan dinding sel secara kovalen. Asam teikoat terdiri dari dua jenis yakni dinding asam teikoat (WTA) dan asam lipoteikoat (LTA). Asam teikoat ini berfungsi mengikat magnesium untuk digunakan dalam reaksi metabolisme sel, sebagai antigen untuk klasifikasi serologi bakteri, sebagai substrat untuk banyak enzim autolitik dan memberikan penghalang permeabilitas eksternal (Aurelia, 2010).

c. Habitat

Bakteri *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri yang bersifat fakultatif anaerob. Organisme ini dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen bebas. Bakteri ini cenderung menggunakan oksigen untuk respirasi aerob. Namun, pada suatu lingkungan yang kekurangan oksigen, respirasi seluler dapat berlangsung secara anaerob menggunakan senyawa-senyawa seperti nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) atau sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) sebagai akseptor hidrogen terakhir atau melalui jalur fermentatif. Anaerob fakultatif, karena ketertidaktarikannya dengan oksigen ,

memperlihatkan pertumbuhan di seluruh media (Cappucino dan Sherman, 2014). *Enterococcus faecalis* merupakan bagian mikrobiota normal enterik. Spesies *Enterococcus*, terutama *E. faecalis* adalah spesies yang paling sering terisolasi atau terdeteksi di infeksi oral rongga mulut, termasuk pada periodontitis marginalis, infeksi saluran akar dan pada abses periradikuler (Ichwani, 2017).

d. Patogenitas

*Enterococcus faecalis* adalah spesies yang paling umum ditemukan dan menyebabkan 85-90% infeksi enterococcal, *Enterococcus faecium* menyebabkan 5-10% infeksi. *Enterococcus* merupakan salah satu penyebab tersering infeksi nosokomial, khususnya di unit perawatan intensif, dan terseleksi oleh terapi cephalosporin dan antibiotik lain dimana mereka memiliki daya tahan. *Enterococcus* ditularkan dari satu pasien ke pasien lain terutama melalui tangan petugas rumah sakit, beberapa di antaranya mungkin membawa bakteri ini dalam saluran gastrointestinal.

*Enterococcus* kadang-kadang ditularkan melalui peralatan medis. Pada pasien, lokasi infeksi tersering adalah saluran kemih, luka, saluran empedu, dan darah. *Enterococcus* dapat menyebabkan meningitis dan bakteremia pada neonatus. Pada orang dewasa, *Enterococcus* dapat menyebabkan endokarditis. Namun, pada infeksi intraabdomen, luka, saluran kemih, dan lainnya, *Enterococcus* biasanya terbiak bersama spesies bakteri lainnya sehingga sulit untuk memastikan peran

patogenik *Enterococcus* dalam situasi klinis tersebut (Carroll, dkk., 2017).

*Enterococcus faecalis* merupakan salah satu bakteri yang terdapat pada saluran pencernaan manusia. Jumlah rata-rata normal *Enterococcus faecalis* pada lumen usus manusia yang tidak menyebabkan efek merugikan bagi pejamu adalah antara  $10^5$  -  $10^8$  CFU/g. Namun, apabila sistem imun pejamu menurun atau *Enterococcus faecalis* menjadi resisten karena penggunaan antibiotik, maka hal ini dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi, seperti infeksi pada saluran kemih, aliran darah, abdomen, endokardium, luka bakar, dan pada rongga mulut seringkali terlibat dalam infeksi pada saluran akar (Aurelia, 2010).

Patogenitas adalah kapasitas mikroba untuk menyebabkan suatu penyakit atau kelainan. Sedangkan virulensi adalah derajat patogenitas atau derajat keparahan penyakit. Bakteri *Enterococcus faecalis* memiliki beberapa faktor virulensi seperti enzim litik (cytolysin), substansi agregasi dan lipoteichoic acid. Adhesin berfungsi membantu perlekatan bakteri, berupa enterococcal aggregation substance, surface protein (Esp) dan collagen adhesion (Ace). Aggregation substance membantu perlekatan *Enterococcus faecalis* dengan bakteri lain sehingga memfasilitasi pertukaran plasmid antara galur recipient dan galur donor. Akibatnya materi gen seperti gen yang resisten terhadap

antibiotik dapat ditransfer antara galur *Enterococcus faecalis* dengan spesies lain.

*Enterococcus faecalis* memiliki 2 protease yaitu gelatinase yang dapat menghidrolisa gelatin, kasein, insulin fibrinogen dan peptide, bahan-bahan yang dapat menjadi sumber nutrisi bagi *Enterococcus faecalis* dan Serin protease yang dapat membantu perlekatan *Enterococcus faecalis* ke kolagen tipe I. Perlekatan bakteri pada hospes sangat penting karena merupakan tahap awal dimulainya infeksi. Sitosin adalah toksin *Enterococcus faecalis* yang dapat melisis eritrosit, netrofil PMN, makrofag dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Bakteriosin seperti AS-48 dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain sehingga *Enterococcus faecalis* dapat membentuk monobiofilm tanpa kehadiran bakteri lain (Sari, 2014).

e. Identifikasi Bakteri *Enterococcus faecalis*

1) Reaksi hemolisis

Terdapat 2 pengelompokan berdasarkan sifat hemolisisnya pada agar darah (Gupte, 1990).

a) Hemolisis alfa ( $\alpha$ )

Memiliki ciri-ciri yaitu dapat membuat zona berwarna kehijauan di sekeliling koloni. Zona hemolisis ini memiliki lebar 1 - 2 milimeter dengan tepian yang tidak rata (Gupte, 1990).

b) Hemolisis beta ( $\beta$ )

Ciri-ciri dari bakteri jenis ini adalah dapat membuat zona hemolisis yang jernih tanpa warna, memiliki batas yang tegas dan diameter zona hemolisisnya 2 – 4 milimeter (Gupte, 1990).

*Enterococcus faecalis* merupakan jenis bakteri yang memiliki tipe hemolisis alfa di mana sel-sel darah merah tetap utuh, namun hemoglobin diubah menjadi biliverdin, sehingga menyebabkan plate agar darah terjadi penghijauan di sekitar koloni bakteri.

## 2) Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram membagi bakteri menjadi dua kelompok utama yaitu bakteri gram negatif dan bakteri gram positif, yang menjadikannya sebagai suatu alat yang penting untuk klasifikasi dan differensial mikroorganisme. Reaksi pewarnaan gram didasarkan pada perbedaan komposisi kimiawi dinding sel bakteri. Pada bakteri gram positif seperti *Enterococcus faecalis* memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga pada saat pengamatan mikroskopik dengan pewarnaan gram akan terlihat sel bakteri berwarna ungu (Cappucino dan Sherman, 2014).

## 3) Eva Broth

Eva broth adalah medium selektive untuk mendeteksi *Enterococcus*. Sodium azide dan Ethyl violet yang terdapat dalam medium dapat menghambat semua basil gram positif dan coccus gram positif kecuali bakteri enterococci. Medium ini digunakan

untuk membedakan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan *Streptococcus*. Kekeruhan pada media menandakan adanya pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

#### 4) Uji Katalase

Mikroorganisme menghasilkan hidrogen peroksida pada respirasi aerob. Akumulasi bahan ini akan mengakibatkan kematian organisme, kecuali bahan itu dapat diuraikan secara enzimatik. Bahan itu dihasilkan saat mikroorganisme aerob, anaerob fakultatif dan mikroaerofil menggunakan jalur respirasi aerob pada penguraian karbohidrat untuk menghasilkan energi. Dalam jalur respirasi aerob, oksigen merupakan akseptor elektron akhir (Cappucino dan Sherman, 2014).

*Enterococcus faecalis* merupakan organisme yang tidak dapat menghasilkan katalase. Uji katalase positif ditunjukkan dengan gelembung-gelembung gas saat penambahan substrat  $H_2O_2$  kedalam biakan. Uji katalase bertujuan untuk membedakan bakteri *Enterococcus* dan *Streptococcus* dengan bakteri *Staphylococcus*.

## 2. Media Pertumbuhan Bakteri

Pembiakan adalah proses perbanyakan organisme melalui penyediaan kondisi lingkungan yang sesuai. Mikroorganisme yang sedang tumbuh membutuhkan adanya elemen-elemen dalam komposisi kimia mereka. Nutrisi harus menyediakan elemen ini dalam bentuk yang mudah dimetabolisme. Faktor-faktor yang harus dikontrol dalam pertumbuhan

bakteri yaitu nutrisi, pH, temperatur, aerasi, konsentrasi garam dan kekuatan ionik medium (Brooks, dkk., 2005).

a. Kebutuhan Nutrisi

Nutrien dalam medium pertumbuhan harus mengandung semua unsur yang diperlukan untuk sintesis biologis organisme – organisme baru.

Kebutuhan nutrisi bakteri antara lain :

1) Sumber Karbon

Sebagian bakteri mampu menggunakan energi fotosintetik untuk mereduksi karbon dioksida dengan menggunakan air. Organisme-organisme ini termasuk dalam grup autotrof, yaitu makhluk yang tidak memerlukan nutrisi organik untuk pertumbuhan. Sedangkan Heterotrof memerlukan karbon organik untuk pertumbuhan, dan karbon organik ini harus terdapat dalam bentuk yang dapat diasimilasi (Carroll, dkk., 2017).

2) Sumber Nitrogen

Nitrogen merupakan atom yang penting dalam banyak makromolekul seluler, terutama protein-protein dan asam-asam nukleat. Protein berperan sebagai molekul-molekul struktural yang membentuk sesuatu yang disebut bahan sel dan sebagai molekul fungsional enzim-enzim (Cappucino dan Sherman, 2014).

3) Sumber Sulfur

Sulfur merupakan komponen dari banyak substansi sel organik. Sulfur membentuk bagian struktur beberapa koenzim dan

ditemukan dalam rantai samping sisteinil dan metionil pada protein. Sebagian besar mikroorganisme dapat menggunakan sulfat sebagai sumber sulfur dengan mereduksi sulfat menjadi hidrogen sulfida ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Sebagian mikroorganisme dapat mengasimilasi  $\text{H}_2\text{S}$  secara langsung dari medium pertumbuhan, tetapi senyawa ini dapat bersifat toksik bagi banyak organisme (Carroll, dkk., 2017)..

#### 4) Sumber Fosfor

Fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) diperlukan sebagai komponen ATP, asam nukleat, dan koenzim-koenzim, seperti NAD, NADP, dan flavin. Selain itu, banyak dari metabolit, lipid (fosfolipid, lipid A), komponen dinding sel (asam teikoat), beberapa polisakarida kapsul, dan beberapa protein yang terfosforilasi (Carroll, dkk., 2017).

#### 5) Sumber Mineral

Saat membuat medium pembiakan sebagian besar mikroorganisme, perlu disediakan sumber-sumber kalium, magnesium, kalsium, dan besi, yang biasanya berupa bentuk ion ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , dan  $\text{Fe}^{2+}$ ). Banyak mineral lain (misalnya  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , dan  $\text{Zn}^{2+}$ ) yang juga diperlukan. Mineral-mineral ini sering dapat disediakan dalam bentuk air mengalir atau sebagai kontaminan bahan medium lain. Berbagai mineral diperlukan untuk fungsi enzim. Ion magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) dan Ion fero ( $\text{Fe}^{2+}$ ) juga ditemukan dalam turunan porfirin: magnesium dalam molekul klorofil, serta besi sebagai bagian koenzim sitokrom

dan peroksidase.  $Mg^{2+}$  dan  $K^+$  diperlukan untuk fungsi dan integritas ribosom. Meskipun tidak penting bagi bakteri gram negatif,  $Ca^{2+}$  dibutuhkan sebagai unsur pokok dinding sel organisme gram positif (Carroll, dkk., 2017).

#### 6) Faktor Pertumbuhan

Faktor pertumbuhan adalah senyawa organik yang harus dimiliki sebuah sel agar dapat tumbuh, tetapi tidak dapat disintesis sendiri. Kebutuhan faktor pertumbuhan spesies mikroba yang berbeda sangat beragam. Senyawa yang terlibat tersebut ditemukan pada dan penting bagi semua organisme. Perbedaan dalam kebutuhan ini mencerminkan perbedaan dalam kemampuan sintesis (Carroll, dkk., 2017).

#### b. Jenis-jenis Media

Media dibutuhkan oleh bakteri sebagai tempat pertumbuhan. Dalam laboratorium, ada beberapa jenis media yang digunakan. Macam-macam media pertumbuhan bakteri berdasarkan tujuannya, yaitu:

##### 1) Media Selektif

Media selektif digunakan untuk mengisolasi kelompok-kelompok bakteri yang spesifik. Media-media ini mengandung zat-zat kimia yang menghambat pertumbuhan satu jenis bakteri dan memungkinkan pertumbuhan bakteri lainnya sehingga memudahkan isolasi bakteri. Media yang termasuk media selektif

adalah agar feniletil alkohol, agar kristal violet dan agar NaCl 7,5% (Cappucino dan Sherman, 2014).

## 2) Media Selektif/Diferensial

Media ini dapat membedakan kelompok organisme yang berkaitan secara morfologi dan biokimia. Setelah proses inokulasi dan inkubasi akan terlihat perubahan karakteristik pada tampilan pertumbuhan bakteri atau media di sekeliling koloni yang memungkinkan diferensiasi. Media yang termasuk media diferensial yaitu agar garam manitol, agar macconkey dan agar eosin-metilen biru (Cappucino dan Sherman, 2014).

## 3) Media yang Diperkaya

Media yang diperkaya adalah media yang telah ditambah bahan nutrisi tinggi seperti darah atau serum untuk kultivasi organisme selektif. Penambahan darah pada media agar memiliki fungsi antara lain sebagai penyubur, nutrisi bakteri, sumber unsur hara, dan membedakan kemampuan melisiskan sel darah. Agar darah memiliki nutrisi antara lain lipid, kolesterol, protein (albumin dan globulin), glukosa, asam amino, amilase, kreatinin, natrium, zat besi, urea, asam urat, magnesium, fosfat, mangan dan yodium.

Media agar darah yang umum digunakan dan menjadi standar adalah media media agar darah dengan penambahan darah domba. Media tersebut mampu menumbuhkan bakteri secara maksimal. Media agar darah terdiri dari dua komponen utama, yaitu agar base

dan darah. Agar yang disuplementasi dengan 7% darah hewan adalah media pertumbuhan yang umum digunakan untuk mengidentifikasi bakteri patogen. Media ini dapat menumbuhkan banyak bakteri patogen namun juga dapat mengidentifikasi bakteri berdasarkan karakteristik pertumbuhan, morfologi koloni, dan kemampuan hemolisis. Media agar dengan darah domba menjadi media yang direkomendasikan untuk melakukan kultur *Enterococcus faecalis* (Maulidyna, 2018).

Morfologi dan struktur membran sel darah merah domba memengaruhi kemampuan hemolisis oleh bakteri. Eritrosit domba berukuran lebih kecil dibandingkan dengan eritrosit manusia, sehingga lebih mudah terjadi hemolisis. Pembentukan eritrosit domba terjadi di tulang belakang. Domba memiliki eritrosit berukuran  $\pm 4,8 \mu\text{m}$  dengan bentuk cakram bikonkaf dan pinggiran sirkuler. Karakteristik eritrosit domba yaitu tidak berinti dan nonmotil. Kandungan utama dalam eritrosit domba yaitu hemoglobin, lipid, kolesterol, protein, dan enzim. Bahan organik lain yang terkandung dalam eritrosit domba adalah asam amino, urea, natrium, kalium, magnesium, fosfat, kreatinin, dan glukosa (Ariyani, 2020).

### 3. Pelarut Media Agar Darah

Pelarut adalah suatu zat yang melarutkan zat terlarut untuk menghasilkan suatu larutan. Penelitian ini menggunakan dua bahan sebagai pelarut yaitu akuades dan air kelapa.

#### a. Akuades

Akuades adalah air hasil penyulingan yang bebas dari zat-zat pengotor sehingga bersifat murni dalam laboratorium. Akuades berwarna bening, tidak berbau, dan tidak memiliki rasa. Akuades biasa digunakan untuk membersihkan alat-alat laboratorium dari zat pengotor. Akuades merupakan pelarut yang jauh lebih baik dibandingkan hampir semua cairan yang umum dijumpai. Senyawa yang segera melarut di dalam akuades mencakup berbagai senyawa organik netral yang mempunyai gugus fungsional polar seperti gula, alkohol, aldehida, dan keton. Kelarutannya disebabkan oleh kecenderungan molekul akuades untuk membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil gula dan alkohol atau gugus karbonil aldehida dan keton.

Air murni (akuades) merupakan suatu pelarut yang penting dan memiliki kemampuan untuk melarutkan zat kimia seperti garam-garam, gula, asam, beberapa jenis gas dan banyak macam molekul organik sehingga akuades disebut sebagai pelarut universal. Akuades berada dalam kesetimbangan dinamis antara fase cair dan padat dibawah tekanan dan temperatur standar. Dalam bentuk ion, akuades dapat

dideskripsikan sebagai asosiasi (ikatan antara sebuah ion hidrogen ( $H^-$ ) dengan sebuah ion hidroksida ( $OH^+$ ). Akuades merupakan substansi kimia dengan rumus kimia  $H_2O$ , satu molekul air tersusun atas dua atom hidrogen yang terikat secara kovalen pada satu atom oksigen (Suryana, 2013).

Akuades merupakan pelarut universal yang biasanya digunakan sebagai pelarut media untuk pertumbuhan bakteri. Akuades merupakan air hasil dari destilasi atau penyulingan, dapat disebut juga air murni ( $H_2O$ ). Pelarut ini bersifat netral dan tidak berbahaya sehingga aman jika digunakan dalam bahan pangan. Akuades atau air yang telah disuling memiliki kadar mineral sangat minim sehingga tidak mempengaruhi pada proses pertumbuhan bakteri. Pengadaan akuades cenderung lebih mudah karena kelimpahan air yang mudah didapatkan. Kelemahannya hanya pada proses evaporasi (penguapan) yang lebih lama karena titik didihnya lebih tinggi. Secara umum, metode yang banyak digunakan untuk menghasilkan akuades adalah dengan proses destilasi atau penyulingan. Ada empat macam proses destilasi yang digunakan yaitu destilasi sederhana, destilasi fraksionisasi, destilasi uap, dan destilasi vakum. Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan bahan untuk menguap (*volatilitas*). Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini kemudian didinginkan kembali kedalam bentuk cairan (Bernad, 2019).

Akuades telah banyak dimanfaatkan dibidang mikrobiologi, salah satunya sebagai pembuatan media mikrobiologi untuk pertumbuhan bakteri. Akuades dikomposisikan sebagai pelarut media, salah satu contohnya adalah media *Blood Agar Base* (BAB) yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Akuades akan melarutkan media *Blood Agar Base* (BAB) yang berupa serbuk sehingga dihasilkan suatu larutan yang homogen untuk kemudian dilakukan sterilisasi. Media yang telah di *autoclave* atau dilakukan sterilisasi selanjutnya dimasukkan kedalam *plate* sehingga media akan memadat membentuk seperti agar. Media padat inilah yang digunakan sebagai media perkembangbiakan bakteri.

Pertumbuhan bakteri *Enterococcus* dalam media *Blood Agar Plate* (BAP) mempunyai karakteristik yaitu ukuran diameter koloni yang kecil, berkisar 0,5-1 mm. Pertumbuhan *Enterococcus* cenderung lambat pada media padat atau media cair kecuali diperkaya dengan nutrisi diluar bahan medium yang digunakan (Brooks, dkk., 2005). Salah satu yang dapat digunakan adalah air kelapa. Air kelapa dapat difungsikan sebagai pelarut pengganti akuades sekaligus pengkaya nutrisi media pertumbuhan. Air Kelapa diharapkan dapat digunakan sebagai pelarut yang bernutrisi tinggi sehingga pertumbuhan bakteri akan lebih maksimal.

b. Kelapa

Tanaman kelapa merupakan salah satu tanaman industri yang mempunyai peranan penting dan merupakan sumber daya alam yang sangat potensial. Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman kelapa. Kelapa merupakan anggota tanaman palmae yang banyak tersebar di daerah tropis. Kelapa memiliki dua varietas yaitu varietas dalam (*tall variety*) dan genjah (*dwarf variety*). Ciri-ciri yang dapat diamati dari varietas tanaman kelapa dalam adalah mulai berbuah pada umur 6-8 tahun dan umur pohon mencapai 110 tahun. Varietas ini memiliki batang yang tinggi mencapai 35 m, buah berukuran besar dengan daging buah  $\frac{1}{2}$  kg dan air  $\frac{1}{2}$  liter. Warna buah kelapa ini adalah hijau dan merah. Sedangkan kelapa genjah atau disebut kelapa kerdil, kelapa puyuh atau kelapa babi mulai berbuah pada umur 3-4 tahun. Buah kelapa genjah kecil-kecil, beratnya sekitar 1 kg dan daging buahnya 400 gram. Batang kelapa ini berukuran kecil dan pangkal batangnya tidak besar. Umur kelapa genjah rata-rata 50 tahun (Soedijanto, 1991). Kelapa genjah berdasarkan sifatnya dibagi 5 yaitu : kelapa gading, kelapa raja, kelapa puyuh, kelapa raja malabr dan kelapa hias.

Tanaman kelapa memiliki banyak manfaat, salah satu diantaranya adalah air kelapa (Tenda, 2004). Produksi air kelapa cukup berlimpah di Indonesia, namun pemanfaatannya masih kurang terutama air kelapa tua. Air kelapa tua yang terbuang percuma dapat menimbulkan polusi

asam asetat yang terbentuk oleh karena fermentasi air kelapa (Yolanda dan Mulyana, 2011). Air kelapa dapat dimanfaatkan sebagai bahan pelarut sekaligus pengkaya media pertumbuhan bakteri. Varietas tanaman kelapa yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kelapa genjah dengan jenis kelapa gading. Tanaman kelapa gading ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Kelapa Gading  
Sumber: Balai Lingkungan Hidup DIY, 2016

Kelapa Gading (*Cocos nucifera* L.) adalah flora identitas Kota Yogyakarta, yang ditetapkan berdasarkan Keputusan Walikotaamadya Yogyakarta Nomor 2 tahun 1998. Tanaman kelapa gading berakar serabut terdiri atas serabut utama yang tumbuh secara vertikal dan horizontal. Serabut primer akan bercabang membentuk akar sekunder yang arah pertumbuhannya ke atas dan ke bawah. Selanjutnya, akar sekunder akan tumbuh lagi menjadi akar tersier. Batang tegak beruas-ruas, memiliki pangkal pelepah daun yang melekat kokoh dan sulit terlepas meskipun daun telah kering dan mati. Daun tersusun secara majemuk, menyirip sejajar tunggal, pelepah pada tangkai daun pendek, duduk pada batang, warna hijau kekuningan. Bunga terdiri atas bunga jantan dan bunga betina. Bunga jantan berbentuk lonjong memanjang, sedangkan bunga betina agak membulat. Buah kelapa tersusun dari kulit buah yang keras, berwarna kuning, daging buah berwarna putih dan endosperm berupa cairan berwarna bening agak keruh (Balai Lingkungan Hidup DIY, 2016). Adapun Klasifikasi tanaman kelapa adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Liliopsida  
Ordo : Arecales  
Famili : Areaceae  
Genus : Cocos

Spesies : *Cocos nucifera* L.

Buah kelapa terdiri dari kulit luar, sabut, tempurung, kulit daging, daging buah, air kelapa dan bakal buah (lembaga). Buah kelapa yang sudah tua mengandung kalori yang tinggi, sebesar 359 kal per 100 gram, daging kelapa setengah tua mengandung kalori 180 kal per 100 gram dan daging kelapa muda mengandung kalori sebesar 68 kal per 100 gram. Sedang nilai kalori rata-rata yang terdapat pada air kelapa berkisar 17 kalori per 100 gram (Wahyuni, 2018) .

Air kelapa adalah air alamiah yang steril dan mengandung kadar kalium, khlor, serta klorin yang tinggi. Air kelapa merupakan cairan bening di dalam kelapa (buah dari pohon kelapa). Sebagai buah yang matang, air kelapa secara bertahap diganti dengan daging kelapa dan udara (Haerani dan Hamdana, 2016). Komposisi air kelapa terutama kandungan gulanya dipengaruhi oleh umur buah kelapa. Semakin tua umur buah kelapa maka kandungan fruktosa dan glukosanya akan meningkat, sedangkan kandungan sukrosanya akan menurun. Air kelapa kurang tahan selama penyimpanan dan komponen gula yang terdapat didalamnya mudah mengalami fermentasi spontan sehingga rasanya cepat menjadi asam (Siti, 2010). Kandungan gizi air kelapa ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Air Kelapa

Zat Gizi	Air Kelapa Tua	Air Kelapa Muda
Kalori (K)	17,0	-
Protein (gram)	0,2	0,14
Lemak (gram)	1,00	1,50
Karbohidrat (gram)	3,80	4,60
Kalsium (mg)	15,00	-
Fosfor (mg)	8,00	0,50
Besi (mg)	0,20	-
Vitamin C (mg)	1,00	-
Air (gram)	95,50	91,50

Sumber : Ernawati, 2010

Senyawa kimia dalam air kelapa terdiri dari unsur makro dan unsur mikro. Unsur makro dalam air kelapa adalah hidrat arang (karbohidrat) dan nitrogen (berupa protein asam amino). Karbohidrat dalam komposisi air kelapa terdiri dari sukrosa, glukosa, fruktosa. Asam amino dalam air kelapa sendiri terdiri dari beberapa senyawa seperti alanine, serin, arginine, sistin dan alin. Mineral yang terkandung pada air kelapa tua ialah zat besi, fosfor, kalium (potassium), kalsium, ferum, natrium, sulfur, fosfor, magnesium, sodium, klor dan cuprum. Gula terdiri dari glukosa, fruktosa dan sukrosa (Cahyadi, 2007). Selain mengandung gula dan mineral, air kelapa juga mengandung vitamin-vitamin seperti asam folat, asam nikotinat, asam pentotenat, riboflavin,

tiamin, biotin. Vitamin-vitamin tersebut sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Bahkan ditemukan pula adanya kandungan vitamin B kompleks dalam komposisi air kelapa.

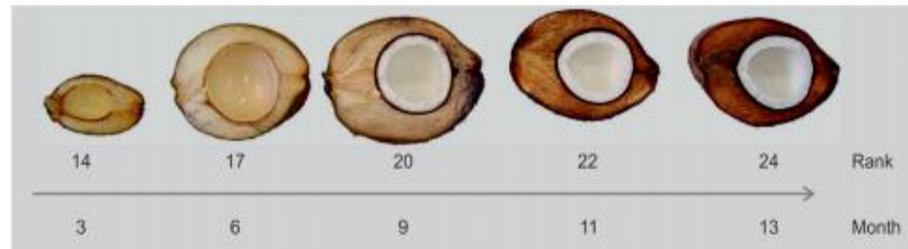
Air kelapa telah digunakan sebagai media pertumbuhan untuk kultur jamur, makroalga, dan mikroalga. Hal tersebut dikarenakan air kelapa banyak mengandung zat yang bermanfaat seperti makronutrien, vitamin, asam amino, berbagai mineral, dan bahkan hormon pertumbuhan. Pada air kelapa juga terkandung asam amino dan enzim yaitu Asam folat, Catalase, Dehydrogenase, Diastase, Peroxidase, dan RNA polymerase. Komposisi nutrisi air kelapa yang lengkap tersebut merupakan alternatif pengganti media sintetik pada kultur pertumbuhan mikroalga (Putri, dkk., 2013).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa air kelapa dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar media pertumbuhan bakteri, antara lain penelitian yang dilakukan oleh Nuraeni dan Sebayang (2018), hasil penelitian menunjukkan bahwa pada media *Lowestein Jensen* dan *base* agar darah yang ditambahkan air kelapa konsentrasi 100%, dengan suhu inkubasi 35<sup>0</sup>C dan 37<sup>0</sup>C dapat menumbuhkan koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada hari ke empatbelas. Penelitian lain dilakukan oleh Yolanda dan Mulyana (2011), dengan melakukan isolasi bakteri dari beberapa spesies *Enterobacteriaceae* dan kokus gram positif menggunakan air kelapa tua yang dikomposisikan menyerupai agar MacConkey dan lempeng agar darah. Hasil penelitian menunjukkan

gambaran spesifik dari bakteri uji seperti koloni berwarna merah, gambaran mukoid, dan zona hemolitik serupa antara media standar dan media air kelapa tua.

Air kelapa yang digunakan dalam pembuatan media agar darah adalah air kelapa tua yang diperoleh dari kelapa tua. Air kelapa muda atau air kelapa yang terlalu tua atau yang telah keluar bakal tunasnya tidak bisa digunakan sebab, air kelapa muda belum cukup mengandung mineral sebagai nutrisi pendukung pertumbuhan dan aktifitas bakteri. Sebaliknya, air kelapa yang berasal dari kelapa yang telah terbentuk tunas mengandung minyak berlebihan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Pambayun, 2002).

Buah kelapa terdiri dari bagian luar (*endocarp*) dan bagian dalam (*endosperm*). *Endosperm* terdiri dari dua bagian yaitu daging buah (*White kernel*) dan cairan jernih yang dikenal dengan air kelapa. Buah kelapa mencapai maturitas maksimal umur 12-13 bulan. Pada umur 5 bulan, dinding endosperm mulai terbentuk lapisan tipis yang disebut kernel, yang mengelilingi air kelapa di dalamnya. Volume air kelapa mencapai maksimal pada umur 6-8 bulan, dan seiring dengan bertambahnya umur buah kelapa, volume air makin berkurang digantikan dengan kernel yang makin keras dan tebal. Saat kernel mencapai ketebalan maksimal (umur 12-13 bulan), volume air kelapa hanya sekitar 15% dari berat buah kelapa (Aziz, 2017). Perkembangan buah kelapa ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Perkembangan Buah Kelapa

Sumber: Prades, dkk., 2012.

Pertumbuhan tanaman kelapa dibagi kedalam tiga fase : Fase1, berlangsung selama 4-6 bulan. Pada fase ini bagian tempurung dan sabut hanya membesar dan masih lunak. Lubang embrio juga ikut membesar dan berisi penuh air. Fase 2, berlangsung selama 2-3 bulan. Pada fase ini tempurung berangsur-angsur menebal tetapi belum keras betul. Fase 3, pada fase ini putih lembaga atau endosperm sedang dalam penyusunan, yang dimulai dari pangkal buah berangsur-angsur menuju ke ujung. Pada bagian pangkal mulai tampak bentuknya lembaga, warna tempurung berubah dari putih menjadi coklat kehitaman dan bertambah keras (Ningrum, 2019).

Perubahan paling signifikan selama proses pematangan adalah volume air kelapa. Saat kelapa mulai tumbuh, ada peningkatan dalam kapasitas air kelapa sampai kernel mulai terbentuk di dalam rongga buah. Kemudian, volume airnya berkurang karena secara bertahap digunakan oleh buah untuk membentuk kernel. Dibandingkan dengan komponen lain dari air kelapa, komponen yang mengalami perubahan signifikan selama pematangan adalah gula. Kandungan gula maksimal,

yaitu 3 gram per 100 ml air kelapa, tercapai pada bulan keenam umur buah, kemudian menurun dengan semakin tuanya kelapa (Prades, dkk., 2012).

Air kelapa secara pertumbuhan semakin tua semakin sedikit volumenya, terbukti jika kelapa tua digoyang-goyang air kelapa akan berbunyi. Karena kelapa semakin tua kadar airnya semakin berkurang. Buah yang berumur kira-kira 5 bulan mengandung air yang maksimum yaitu air kelapa yang memenuhi seluruh rongga buah kelapa. Semakin tua umur buah kelapa, semakin berkurang volume air kelapanya. Hal ini disebabkan oleh kebutuhan buah kelapa untuk transpirasi dan respirasi. Air Kelapa yang dihasilkan dari kelapa tua akan memberikan pertumbuhan bakteri yang lebih cepat bila dibandingkan dengan kelapa muda (Wahyuni, 2018).

Perbandingan komposisi media agar darah dengan pelarut air kelapa dan akuades yang ditunjukkan pada Tabel 2.

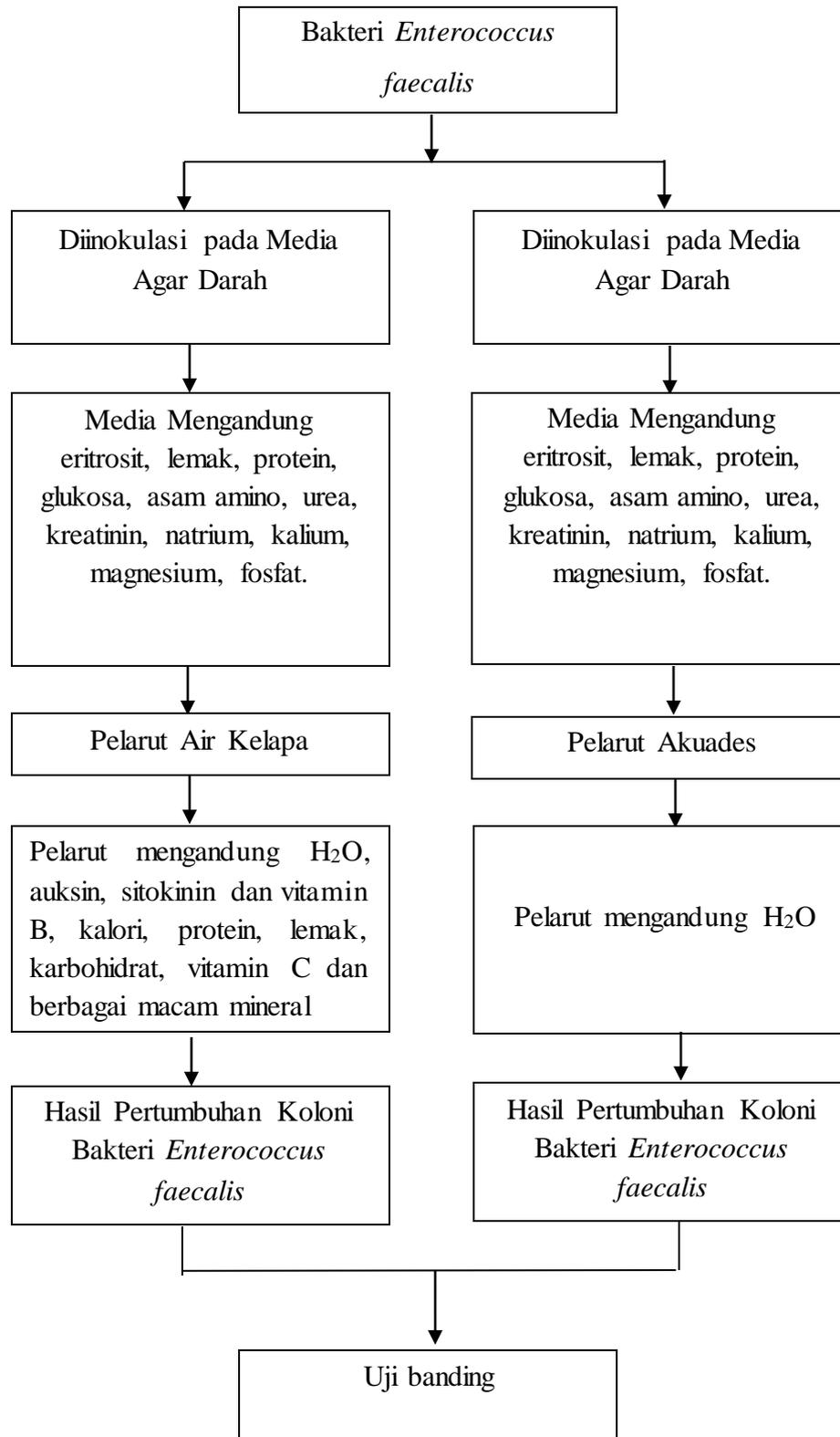
Tabel 2. Perbandingan Komposisi Media Agar Darah

<b>Media Agar Darah dengan Pelarut Air Kelapa</b>	<b>Media Agar Darah dengan Pelarut Akuades</b>
Lab Lamco Powder	Lab Lamco Powder
Pepton	Pepton
Sodium chloride	Sodium chloride
Darah domba	Darah domba
Pelarut Air Kelapa mengandung H <sub>2</sub> O, Vitamin B, Vitamin C Hormon Pertumbuhan (Auksin dan Sitokinin) dan mineral	Pelarut akuades mengandung H <sub>2</sub> O

Sumber: Yolanda dan Mulyana, 2011

## B. Kerangka Teori

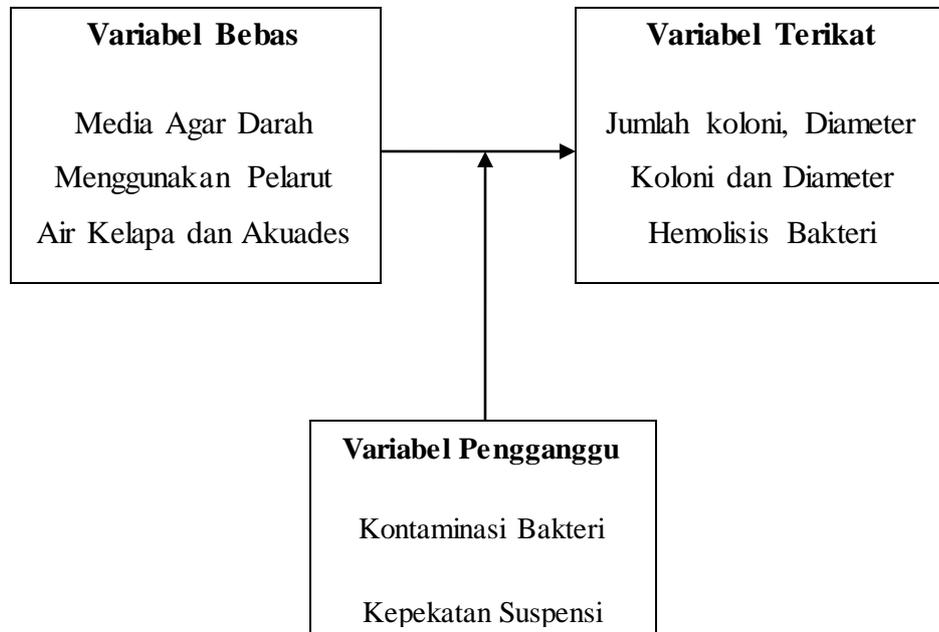
Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kerangka Teori

### C. Hubungan antar Variabel

Hubungan antar variabel penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hubungan antar Variabel

### D. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah ada perbedaan hasil pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* pada media agar darah menggunakan pelarut air kelapa dan akuades.

