

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi dasar media Blood Agar Plate (BAP)	26
Tabel 2. Desain Penelitian.....	33
Tabel 3. Organisasi data	49
Tabel 4. Hasil pengukuran diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri Streptococcus pneumoniae media BAP pelarut akuades dan pelarut variasi konsentrasi air tebu.....	53
Tabel 5. Hasil analisis rerata diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri Streptococcus pneumoniae pada media Blood Agar Plate (BAP).....	54
Tabel 6. Hasil analisis statistik SPSS 25	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Koloni Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i> pada Pengecatan Gram	8
Gambar 2. Koloni Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i> pada Blood Agar Plate	9
Gambar 3. Habitat bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	10
Gambar 4. Macam-macam Zona Hemolisis	12
Gambar 5. Zona Hemolisis Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	13
Gambar 6. Pewarnaan Gram pada Bakteri.....	14
Gambar 7. Pewarnaan Gram pada Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	15
Gambar 8. Uji Katalase Positif dan Negatif.....	15
Gambar 9. Akuades yang dijual di pasaran.....	20
Gambar 10. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	21
Gambar 11. Media Blood Agar Plate	24
Gambar 12. Pohon Tebu.....	27
Gambar 13. Batang Tebu	29
Gambar 14. Kerangka Teori.....	30
Gambar 15. Hubungan Antar Variabel	31
Gambar 16. Rancangan Percobaan	34
Gambar 17. Hasil Pertumbuhan Diameter Koloni	51
Gambar 18. Hasil pengamatan mikroskopis bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i> pada perwarnaan gram.....	52
Gambar 19. Rerata Diameter Koloni	55
Gambar 20. Rerata Diameter Zona Hemolisis	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rencana anggaran penelitian.....	71
Lampiran 2. Jadwal Penelitian.....	72
Lampiran 3. Surat keterangan layak etik	73
Lampiran 4. Surat kebenaran bakteri uji.....	74
Lampiran 5. Surat determinasi bahan uji	75
Lampiran 6. Surat peminjaman laboratorium penelitian.....	76
Lampiran 7. Surat keterangan bebas laboratorium	77
Lampiran 8. Hasil uji statistik.....	78

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakteri *Streptococcus pneumoniae* adalah bakteri flora normal yang terdapat di dalam saluran pernapasan atas terutama nasofaring manusia. Bakteri *Streptococcus pneumoniae* bisa menjadi patogen apabila imunitas tubuh menurun. *Streptococcus pneumoniae* menjadi penyebab kematian utama akibat pneumonia. Pneumonia masih menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas utama karena infeksi pada balita dan anak di dunia dengan menyumbang sebesar 14% kasus kematian balita (WHO, 2021). Di Indonesia kasus pneumonia masih menjadi masalah kesehatan yang signifikan dan menduduki peringkat kedua sebagai penyebab kematian tertinggi setelah diare (Kemenkes, 2023). Oleh karena itu perlu pengendalian yang terstruktur.

Pengendalian bakteri patogen perlu tatalaksana diagnosis dan penanganan kasus yang tepat. Identifikasi bakteri didasarkan pada isolasi bakteri patogen ke dalam biakan murni, pemeriksaan karakteristik koloni bakteri yang tumbuh, morfologi dan karakteristik pewarnaan, karakteristik patogenitas, dan karakteristik yang menunjukkan resistensinya terhadap antibiotika. Seluruh bakteri streptococcus adalah gram-positif dan banyak yang merupakan organisme rewel yang hanya hidup dalam lingkungan dengan nutrisi tertentu. *Golden standar* untuk diagnosis penyakit *Streptococcus pneumoniae* adalah metode kultur Namun kultur sulit

dilakukan karena *Streptococcus pneumoniae* bersifat *fastidious* atau rewel. *Streptococcus pneumoniae* membutuhkan media khusus untuk tumbuh karena memerlukan lingkungan yang kompleks, nutrisi, dan media. Media agar darah dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri ini. Media agar darah merupakan salah satu media pertumbuhan bakteri padat yang dibuat dari campuran serbuk agar base dengan darah. Darah yang digunakan untuk membuat media agar tersebut yaitu menggunakan darah domba yang sudah mengalami proses defibrinasi yang bertujuan untuk menghilangkan faktor-faktor pembekuannya. Darah yang digunakan sebagai bahan pembuatan media agar darah harus memiliki komposisi yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri. Darah domba memiliki komposisi eritrosit 11 juta per mm³, lipid, protein (albumin, globulin), glukosa, asam amino, urea, kreatinin, natrium, kalium, magnesium, fosfat, mangan, kobal, tembaga, seng dan yodium. Selain itu, media pertumbuhan bakteri membutuhkan pelarut. Pelarut yang biasa digunakan adalah akuades (Russel, 2016).

Akuades merupakan air hasil sulingan yang murni, bebas dari zat-zat pengotor, tidak mengandung kandungan logam-logam ataupun anion dan mempunyai pH 7 atau netral. Karena sifatnya yang murni, akuades tidak memberikan tambahan nutrisi sebagai pelarut media bakteri. Sementara itu, bakteri *Streptococcus pneumoniae* membutuhkan media yang diperkaya dengan nutrisi tambahan untuk menunjang pertumbuhannya. Nutrisi air tebu memenuhi kebutuhan pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*,

sehingga air tebu dapat digunakan sebagai pelarut media pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* (Safitri, 2021).

Tebu (*Saccharum officinarum L.*) adalah tanaman jenis rumput-rumputan yang ditanam untuk bahan baku gula. Di Indonesia, khususnya di pulau Jawa dan Sumatera tebu banyak dibudidayakan. Tebu merupakan salah satu tanaman yang memiliki manfaat bagi kesehatan. Kandungan yang ada di dalam air tebu diantaranya karbohidrat, sukrosa, protein, zat besi, kalsium, antioksidan, glukosa, lemak, gula dan kalori, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B6, vitamin C, asam amino, mineral. Sebagai sesama makhluk hidup bakteri juga membutuhkan nutrisi untuk menjaga kelangsungan hidupnya. Nutrisi yang terkandung dalam air tebu selaras dengan nutrisi yang diperlukan bakteri *Streptococcus pneumoniae* untuk tumbuh antara lain vitamin B dan asam amino (Masruri, 2022) .

Penelitian yang dilakukan oleh Dewi, A.P. (2011) dengan judul “Pemanfaatan Campuran Air Tebu dan Limbah Cair Tempe sebagai Bahan Modifikasi Media Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus casei* menunjukkan bahwa air tebu dapat dimanfaatkan menjadi media alternatif cair alami yang kaya akan kandungan gula, zat nitrogen, vitamin serta harganya yang murah. Berdasarkan uraian di atas, menjadi dasar peneliti untuk melakukan penelitian yang lebih lanjut mengenai pemanfaatan air tebu ini dipilih karena sifatnya yang ekonomis dan mudah didapat.

B. Rumusan Masalah

“Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi air tebu sebagai alternatif pelarut media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi air tebu sebagai pelarut media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui rerata hasil pengukuran diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut berbagai konsentrasi air tebu.
- b. Mengetahui konsentrasi optimal air tebu sebagai pelarut media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk isolasi identifikasi bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

D. Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian adalah di bidang Teknologi Laboratorium Medis (TLM), bagian Bakteriologi yang membahas tentang air tebu (*Saccharum officinarum* L.) sebagai pelarut media *Blood Agar Plate* (BAP).

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

- a. Bagi Poltekkes Kemenkes Yogyakarta, berdasarkan hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah literatur kepustakaan dan dapat memberikan informasi ilmiah dalam bidang bakteriologi mengenai air tebu (*Saccharum officinarum L.*) sebagai pelarut pada media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

2. Manfaat praktik

- a. Bagi peneliti lain, diharapkan penelitian ini dapat dijadikan salah satu bahan informasi untuk melakukan penelitian yang lebih mendalam mengenai variasi konsentrasi air tebu (*Saccharum officinarum L.*) sebagai pelarut pada media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
- b. Bagi praktikan, diharapkan penelitian ini dapat dijadikan sebagai salah satu bahan dalam melakukan praktikum isolasi bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
- c. Bagi mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, berdasarkan penelitian ini diharapkan air tebu (*Saccharum officinarum L.*) dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pelarut pada media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk menyuburkan

pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* ketika dibutuhkan dan dalam urgensi tertentu.

F. Keaslian Penelitian

Berdasarkan kajian pustaka yang dilakukan, peneliti menemukan penelitian yang setara, yaitu

1. Dewi, A.P. (2011) dengan judul “Pemanfaatan Campuran Air Tebu dan Limbah Cair Tempe sebagai Bahan Modifikasi Media Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus casei*”

Persamaan : Penelitian yang dilakukan menggunakan bahan yang sama yaitu air tebu.

Perbedaan : Penelitian tersebut dilakukan menggunakan pelarut tambahan limbah cair tempe dan bakteri *Lactobacillus casei*, sementara pada penelitian ini tanpa campuran pelarut hanya air tebu dan menggunakan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

2. Safitri, R.D. (2021) dengan judul “Perbedaan Hasil Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis* pada Media Agar Darah Menggunakan Pelarut Air Kelapa dan Akuades”

Persamaan : Penelitian yang dilakukan menggunakan media yang sama yaitu media *Blood Agar Plate*.

Perbedaan : Penelitian tersebut dilakukan menggunakan pelarut air

kelapa dan bakteri *Enterococcus faecalis*, sementara pada penelitian ini menggunakan air tebu (*Saccharum officinarum* L.) dan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

3. Agustin, Y. (2022) dengan judul “Penggunaan Sari Tebu sebagai Medium Pertumbuhan Mikroalga *Aurantiochytrium* sp. yang Diisolasi dari Pulau Pari, Jakarta”

Persamaan : Penelitian yang dilakukan menggunakan bahan yang sama yaitu sari tebu.

Perbedaan : Penelitian tersebut dilakukan menggunakan mikroalga *Aurantiochytrium* sp., sementara pada penelitian ini menggunakan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

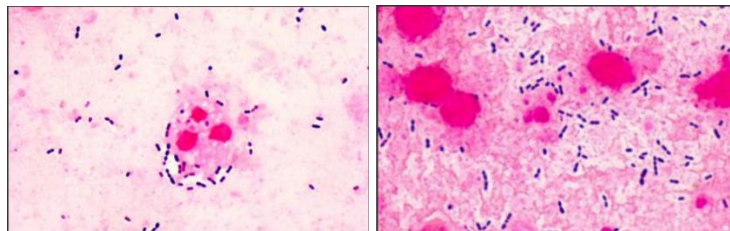
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

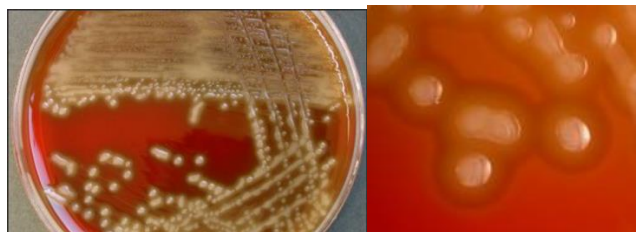
Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri Gram positif, berbentuk khas diplokoki, anaerob fakultatif, serta dapat bersifat alfa-hemolitik. Bakteri ini non motil dan tidak berspora dalam kapsul polisakarida. *Streptococcus pneumoniae* memiliki persamaan dengan spesies streptococcus lainnya yaitu tidak memiliki enzim katalase dan dapat memfermentasi glukosa menjadi asam laktat. Namun, *Streptococcus pneumoniae* tidak memiliki protein M, menghidrolisis inulin, dan dinding selnya terdiri atas peptidoglikan dan asam teichoic. Hasil pewarnaan gram bakteri *Streptococcus pneumoniae* dibawah mikroskop menunjukkan sel bakteri berwarna ungu dan berbentuk bulat. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri gram positif (Fauziah, 2023).



Gambar 1. Koloni Bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada Pengecatan Gram

Sumber : <https://microbe-canvas.com>

Streptococcus pneumoniae memiliki fenotipe mukoid pada media agar karena adanya kapsul polisakarida yang melekat pada luar membran sebagai faktor virulensi. *Streptococcus pneumoniae* dapat diidentifikasi berdasarkan 4 karakteristik fenotip: morfologi koloni pada *Blood Agar Plate* (BAP), solubilitas empedu (diukur melalui uji kelarutan empedu), sensitivitas optochin dan kapsul polisakarida. *Streptococcus pneumoniae* terenkapsulasi pada sputum. Pada kultur BAP, zona alfa-hemolisis mengelilingi bakteri dan menunjukkan adanya kapsul polisakarida di sekitarnya. *Streptococcus pneumoniae* larut dalam garam empedu, sensitif terhadap optochin, dan memiliki sifat autolitik. Koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) akan membentuk warna keabu-abuan, muoid atau basah, memiliki cekungan ditengah koloni dan dikelilingi oleh zona hijau akibat aktivitas alfa-hemolitik (Safari, dkk., 2023).



Gambar 2. Koloni Bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada *Blood Agar Plate*

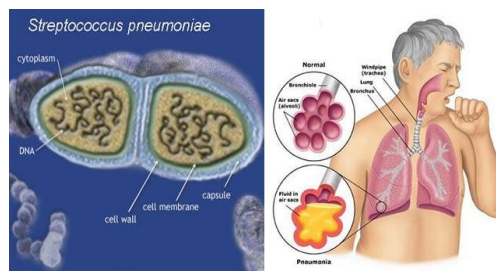
Sumber : <https://microbe-canvas.com>

Panjang rantai *Streptococcus pneumoniae* bermacam-macam dan sebagian besar dipengaruhi oleh lingkungan. Jika

ditanam dalam perbenihan yang mengandung magnesium rendah, rantai panjang akan muncul. Pneumokokus mudah dilisiskan oleh zat aktif permukaan, seperti garam-garam empedu. Zat aktif permukaan dapat menghilangkan atau menonaktifkan penghambat autolisis dinding sel.

a. Habitat

Streptococcus pneumoniae adalah flora normal yang hidup pada tractus respiratorium bagian atas, bakteri ini juga dapat menjadi penyebab penyakit paru-paru infasif (IPD) (Sari, dkk., 2019). *Streptococcus pneumoniae* tinggal di nasofaring orang dewasa dan anak-anak. Namun, bakteri ini dapat tinggal di dalam nasofaring atau menyebar ke tubuh yang lain sehingga menyebabkan penyakit infeksi oportunistik pada area tubuh lain (Marquart, 2021).



Gambar 3. Habitat bakteri *Streptococcus pneumoniae*
Sumber: <https://microbenotes.com>

b. Patogenesis

Pneumococcus menyebabkan penyakit melalui kemampuannya untuk berkembang biak di dalam jaringan. Mereka tidak memproduksi toksin. Kapsul organisme memiliki kemampuan untuk meningkatkan virulensi dengan mencegah atau

memperlambat pencernaan fagosit. Serum yang mengandung antibodi terhadap polisakarida tipe spesifik memiliki kemampuan untuk melindungi dari infeksi. Namun, jika polisakarida tipe tertentu menyerap serum tersebut, daya proteksinya akan hilang. manusia atau hewan yang menerima imunisasi terhadap jenis polisakarida pneumococcus tertentu kemudian menjadi resisten terhadap tipe pneumococcus tersebut karena mereka memiliki antibodi presipitasi dan opsonisasi untuk polisakarida tersebut (Jawets, dkk., 2001)

Carrier (pembawa) pneumococcus yang virulen biasanya 40-70% dari manusia, maka mukosa pernapasan normal harus memiliki daya alamiah bagi pneumococcus. Beberapa faktor yang mungkin menurunkan resistensi tersebut sehingga mempermudah terjadinya infeksi pneumococcus sebagai berikut (Jawets, dkk., 2001):

- a) Infeksi virus dan infeksi saluran napas lain yang merusak sel permukaan: akumulasi abnormal mucus (alergi) yang melindungi pneumococcus dari fagositosis; obstruksi bronkus (misal atelectasis); kerusakan saluran pernapasan akibat iritan yang mengganggu fungsi mukosilia saluran napas
- b) Alkohol atau intoksikasi obat, yang dapat menekan kegiatan fagositik, menekan refleks batuk dan memudahkan aspirasi bahan asing

- c) Dinamika sirkulasi abnormal, misalkan kongesti paru dan gagal jantung
 - d) Mekanisme lain, yaitu malnutrisi, kelemahan umum, anemia sel sabit, hiposplenisme, nefrosis atau defisiensi bahan tambahan.
- c. Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dapat diketahui dengan beberapa cara, yaitu:

1) Reaksi Hemolisis

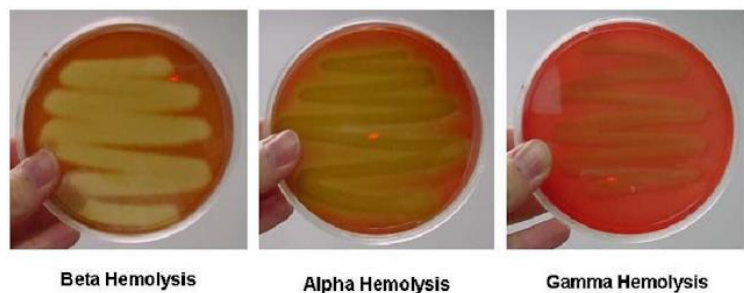
Reaksi hemolisis terbagi menjadi dua kategori, yaitu :

a) Hemolisis alfa (α)

Hemolisis alfa atau alfa-hemolisis adalah zona hemolisis yang ditandai dengan media disekitar koloni bersifat tembus cahaya dengan semburat kehijauan.

b) Hemolisis beta (β)

Hemolisis beta atau biasa disebut beta-hemolisis adalah zona hemolisis yang ditandai dengan media disekitar koloni tampak sepenuhnya transparan (Burke, 2024).



Gambar 4. Macam-macam Zona Hemolisis

Sumber : <https://teknologilaboratoriummedis.com>.

Streptococcus pneumoniae merupakan jenis bakteri yang dapat menghasilkan zona kehijauan pada media Blood Agar Plate (BAP) yang biasa disebut dengan alfa-hemolisis. Zona alfa-hemolisis yang terbentuk pada media Blood Agar Plate (BAP) dapat dihubungkan dengan aktivitas hemolitik pneumococcal pneumolysin (Ply) ataupun dapat dihubungkan dengan lisisnya eritrosit oleh hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh bakteri *Streptococcus pneumoniae* (McDevitt, dkk., 2020).



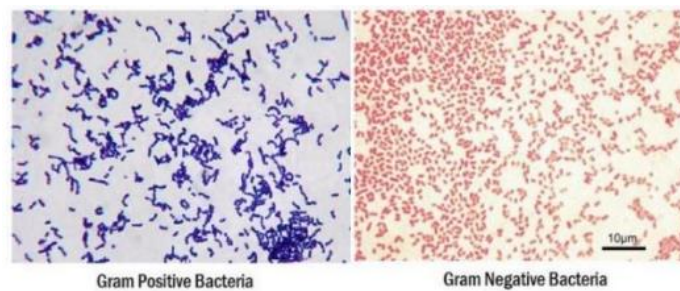
Gambar 5. Zona Hemolisis Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Sumber : <https://teknologilaboratoriummedis.com>.

2) Pewarnaan Gram

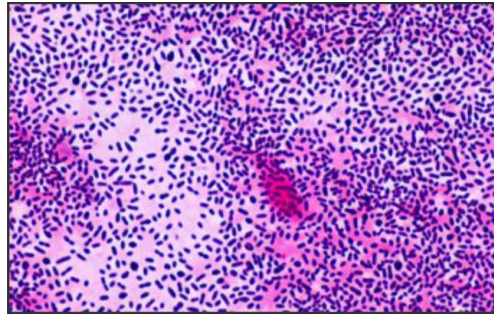
Metode pewarnaan Gram dapat digunakan untuk membedakan bakteri menjadi dua kelompok, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif pada saat pengecatan Gram akan berwarna merah sedangkan

bakteri gram positif akan berwarna ungu (NauE, dkk., 2022). Metode pewarnaan Gram dimulai dengan pemberian zat dasar, yaitu kristal violet. Kemudian diberikan larutan iodium, pada tahap ini keseluruhan bakteri akan berwarna biru. Setelah sel diberi alkohol, sel gram positif tetap berwarna biru karena tetap menahan kompleks kristal violet-iodium. Sedangkan sel gram negatif benar-benar kehilangan warnanya karena alkohol. Pada langkah terakhir, zat pewarna tandingan seperti safranin ditambahkan (Jawetz, dkk., 2016).



Gambar 6. Pewarnaan Gram pada Bakteri
Sumber : www.infolabmed.com.

Anggota streptococcus seluruhnya merupakan bakteri gram positif. *Streptococcus pneumoniae* berbentuk menyerupai lanset atau bulat memanjang yang dapat tumbuh dalam bentuk berantai atau berpasangan (Cappuccino dan Sherman, 2013).

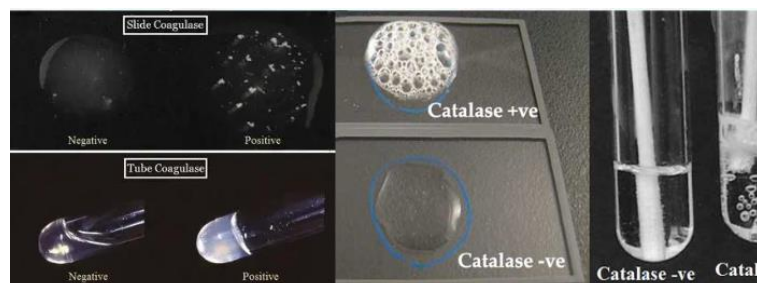


Gambar 7. Pewarnaan Gram pada Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Sumber : <https://microbe-canvas.com>

3) Uji Katalase

Uji katalase dilakukan pada isolat bakteri yang berumur 24 jam dengan cara meneteskan kurang lebih 2 tetes H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung yang menunjukkan bahwa terdapat pembentukan gas oksigen (O₂) sebagai hasil pemecahan H₂O₂ oleh enzim katalase (Hairunnisa, 2019). Isolat bakteri *Streptococcus pneumoniae* setelah ditetaskan H₂O₂ tidak menunjukkan gelembung gas, ini menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus pneumoniae* mempunyai hasil negatif pada uji katalase (Muthmainnah, dkk., 2020).



Gambar 8. Uji Katalase Positif dan Negatif

Sumber : <https://www.microbeholic.com>.

2. Media Pertumbuhan

a. Deskripsi

Media adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroba yang terdiri atas campuran nutrisi atau zat – zat makanan. Selain untuk menumbuhkan mikroba, media dapat juga digunakan untuk isolasi, memperbanyak, pengujian sifat-sifat fisiologis dan perhitungan jumlah mikroba (Aini, 2015 mengutip Jutono, 1980).

Pembiakan mikroorganisme dalam laboratorium memerlukan medium yang berisi zat hara serta lingkungan pertumbuhan yang sesuai dengan mikroorganisme. Zat hara digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme dan pergerakan. Lazimnya, medium biakan berisi air, sumber energi zat hara sebagai sumber karbon, nitrogen, belerang, dan mineral. Dalam bahan dasar medium dapat pula ditambahkan faktor pertumbuhan berupa asam amino, vitamin atau nukleotida (Waluyo, 2016).

Media biakan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dalam bentuk padat, semi-padat dan cair. Media padat diperoleh dengan penambahan agar. Agar berasal dari ganggang merah. Agar digunakan sebagai pemadat karena tidak dapat diuraikan oleh mikroba dan membeku pada suhu diatas 450°C. Kandungan agar sebagai bahan pemadat dalam media adalah 1,5-2,0% (Waluyo, 2016).

Suatu media dapat menumbuhkan mikroorganisme dengan baik diperlukan persyaratan sebagai berikut:

1) Media harus mempunyai tekanan osmose

Tekanan osmose antara sel mikroba dengan media harus sama, oleh karena itu untuk pertumbuhannya jamur membutuhkan media yang isotonis.

2) Derajat keasaman (pH) yang sesuai

Jamur tumbuh baik dalam kondisi asam yang tidak menguntungkan bagi bakteri. pH optimumnya adalah 3,8-5,6.

3) Temperatur

Temperatur tubuh manusia digunakan oleh sebagian mikroorganisme untuk tumbuh dengan baik, pada variasi yang tidak terlalu jauh. Pertumbuhan jamur membutuhkan suhu yang optimal, dan kebanyakan jamur bersifat mesophilik, yaitu mikroba yang menyukai suhu sedang sehingga tumbuh dengan baik pada kisaran suhu 30-37°C. Temperatur yang ekstrim dapat membunuh dan berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroorganisme (Sari & Suryani, 2014).

4) Media harus steril

Pemeriksaan mikrobiologis tidak mungkin dilakukan apabila media yang digunakan tidak steril, karena mikroorganisme

yang diidentifikasi atau diisolasi tidak akan dapat dibedakan dengan pasti apakah mikroorganisme tersebut berasal dari material yang diperiksa ataukah hanya kontaminan. Untuk mendapatkan suatu media yang steril maka setiap tindakan (pengambilan media, penuangan media dan lain-lain) dikerjakan secara aseptik dan alat-alat yang digunakan harus steril (Permadi, 2016).

- 5) Media tidak mengandung zat-zat penghambat
- 6) Media pertumbuhan mengandung semua nutrisi yang digunakan mikroba. Media harus mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan mikroba. Nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan meliputi karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg dan Fe, vitamin air dan energi (Aini, 2015).

b. Sumber nutrisi

Pertumbuhan mikroba memerlukan nutrisi yang bisa didapatkan pada media biakan. Berikut beberapa nutrisi yang dibutuhkan, antara lain:

1) Karbon

Karbon merupakan nutrisi yang sangat dibutuhkan bagi kehidupan mikroorganisme. Terdapat dua jenis mikroorganisme yang berbentuk pada karbon, yaitu

mikroorganisme autotrof dan mikroorganisme heterotrof. Autotrof berarti menggunakan CO₂ sebagai karbon organik sedangkan heterotrof menggunakan glukosa sebagai sumber energi organik (Cappucino, 2014).

2) Nitrogen

Kurang lebih 10 persen berat kering bakteri tersusun atas protein dan asam nukleat yang merupakan komponen utama sumber nitrogen.

3) Belerang Belerang yang kebanyakan digunakan oleh mikroorganisme adalah berupa sulfat yang kemudian direduksi menjadi hydrogen sulfida.

4) Mineral Media yang digunakan untuk pembiakan mikroorganisme haruslah menyediakan sumber potassium, magnesium, kalsium dan besi yang biasanya diformulasikan dalam bentuk ion-ion (K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+}).

c. Pelarut Media

Akuades pada umumnya digunakan sebagai pelarut media pertumbuhan bakteri. Akuades adalah hasil destilasi atau penyulingan sama dengan air murni atau H₂O karena H₂O hampir tidak mengandung mineral. Sedangkan air mineral adalah pelarut yang universal. Oleh karena itu air dengan mudah menyerap atau melarutkan berbagai partikel yang ditemuinya dan dengan mudah menjadi tercemar. Sifat dari akuades yaitu merupakan hasil air

sulingan yang murni dan tidak mengandung kandungan logam–logam ataupun anion, dan mempunyai pH 7 atau netral. Karena akuades merupakan air murni yang sering disebut dengan liquid.



Gambar 9. Akuades yang dijual di pasaran

Sumber: www.tokopedia.com

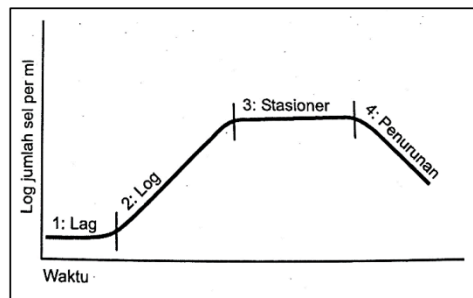
3. Pertumbuhan dan Perkembangan Bakteri

a. Faktor pertumbuhan

- 1) Konsentrasi Ion Hidrogen (pH) Pada setiap spesies mikroorganisme memiliki pH yang berbeda. Rata-rata mikroorganisme tumbuh dengan baik pH optimum 6,0- 8,0.
- 2) Temperatur Spesies mikroorganisme memiliki temperatur optimum yang berbedabeda untuk tumbuh. Bakteri umumnya dibedakan menjadi 3 kelompok. Psikrofil dengan temperatur optimum 0-20°C, mesofil kelompok terbesar dengan pertumbuhan temperature optimum 20- 40°C dan termofil dengan pertumbuhan temperature optimum diatas 45°C atau 50°C.

- 3) Aerasi Beberapa organisme seperti obligat aerob membutuhkan oksigen untuk menerima hidrogen. Sebaliknya, obligat anaerob adalah organisme yang tidak dapat tumbuh pada keadaan ada oksigen.

b. Kurva Pertumbuhan



Gambar 10. Kurva Pertumbuhan Bakteri
Sumber: Cappuccino dan Sherman, 2013.

Kurva pertumbuhan digunakan untuk memperjelas siklus pertumbuhan dan mempermudah perhitungan jumlah sel serta kecepatan pertumbuhan mikroorganisme (Cappuccino, 2014).

1) Fase lag

Fase lag adalah fase sel-sel menyesuaikan diri terhadap lingkungan barunya. Fase ini meningkatkan ukuran sel, namun tidak meningkatkan jumlah sel karena tidak ada pembelahan sel. Metabolisme sel dipercepat pada fase ini, sehingga menyebabkan biosintesis makromolekul seluler yang cepat, terutama pada beberapa enzim.

2) Fase logaritmik (log)

Fase logaritmik (log) adalah fase sel-sel bereproduksi secara cepat dan seragam dengan cara pembelahan biner. Hal tersebut menyebabkan adanya peningkatan eksponensial yang cepat pada populasi dan jumlah sel bakteri. Panjang fase ini beragam sesuai pada organisme dan komposisi media.

3) Fase stasioner

Fase stasioner adalah fase jumlah sel mengalami pembelahan sama dengan jumlah sel yang mati. Tidak ada peningkatan jumlah sel dan populasi bertahan secara maksimum selama periode tertentu pada fase ini. Selain itu juga terjadi pengurangan beberapa metabolit dan akumulasi produk akhir asam atau basa yang bersifat toksik di dalam media.

4) Fase penurunan

Fase penurunan adalah penurunan jumlah populasi hampir menyerupai peningkatan fase log. Hal tersebut terjadi karena menurunnya nutrisi berkelanjutan, bertambahnya buangan metabolik serta kematian mikroorganisme secara cepat dan seragam. Secara teori, seluruh populasi harus mati selama interval waktu yang sama dengan fase log, namun tidak berlaku untuk mikroorganisme yang sangat resisten dalam jangka waktu yang tidak ditentukan.

4. Media Blood Agar Plate

Media pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* salah satunya media agar darah. Menurut American Public Health Association (APHA), bahwa penambahan darah atau serum ke dalam media pertumbuhan bakteri menyebabkan media tersebut kaya akan nutrisi yang dibutuhkan mikroba, sehingga dapat menumbuhkan kuman-kuman patogen yang rewel (fastidious) (Mudatsir, 2010).

Media agar darah dibuat dari blood agar base dengan penambahan darah (defibrinasi) 5-10% pada suhu 50-60°C. Para ahli mikrobiologi dapat menginterpretasikan bakteri tumbuh dengan lebih tepat menggunakan darah domba.

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Isolasi mikroorganisme untuk menjadi kultur murni dapat dilakukan dengan menggunakan media pertumbuhan (Tenny O, 2014).



Gambar 11. Media Blood Agar Plate
Sumber : <https://teknologilaboratoriummedis.com>.

Blood Agar Plate (BAP) merupakan salah satu contoh media padat umum, diperkaya dan diferensial karena dalam proses pembuatannya dilakukan penambahan darah yang telah didefibrinasi. Darah merupakan zat yang kaya akan nutrisi sehingga sebagian besar bakteri dapat tumbuh pada media yang mengandung darah. Media BAP digunakan untuk membedakan bakteri patogen berdasarkan kekuatan hemolitiknya pada sel darah merah. Media yang diperkaya ini mendukung pertumbuhan banyak organisme patogen tetapi pada saat yang sama memungkinkan karakterisasi bakteri yang berbeda berdasarkan pola hemolitiknya (Tenny O, 2014).

Media *Blood Agar Plate* (BAP) biasanya dibuat dengan menambahkan darah domba yang telah didefibrinasi. Darah harus didefibrasi atau ditempatkan dalam wadah yang berisi antikoagulan untuk mencegah pembekuan. Media agar darah dibuat dari media basal dengan penambahan darah 5-10% (defibrinasi) pada suhu 50-60°C.

Agar darah domba menjadi media standar sebagai media pertumbuhan untuk mengidentifikasi jenis bakteri dan sebagai media uji hemolisis dari berbagai bakteri patogen (Tenny O, 2014).

Darah domba mengandung protein, lemak, dan karbohidrat. Kadar gizi dipengaruhi oleh suplai gizi. Kadar glukosa, protein, dan trigliserida sebelum dan sesudah makan mengalami konsentrasi yang berbeda. Kadar protein serum darah domba mempunyai perbedaan yang nyata pada beberapa variasi pakan, sedangkan kadar glukosa serum darah domba tidak berbeda nyata pada beberapa variasi pakan. Darah domba dewasa normal mengandung 9,0 – 11,1 eritrosit, 11,6 – 13,0 hemoglobin, dan 32,0 – 37,0 hematokrit. Jumlah eritrosit juga dipengaruhi oleh nutrisi. Hasil penelitian menunjukkan suplementasi vitamin E berpengaruh signifikan terhadap jumlah eritrosit. Adanya eritrosit menyebabkan darah domba digunakan sebagai bahan tambahan media BAP yang berfungsi untuk melihat hemolisis.

Darah manusia juga mengandung protein, lemak, dan karbohidrat hasil penyerapan pencernaan manusia. Karbohidrat dalam darah diperoleh dari proses pencernaan. Setelah melalui mulut, lambung, dan usus halus, karbohidrat masuk ke cairan limfatik kemudian masuk ke arteri kapiler dan mengalir melalui vena portae menuju hati dan sebagian masuk ke usus besar. Plasma darah merupakan larutan yang mengandung albumin, antikoagulan, hormon, berbagai jenis protein, dan berbagai jenis garam.

Tabel 1. Komposisi dasar media Blood Agar Plate (BAP)

Sumber : Sapkota, 2022.

Bahan-bahan	Gram/Liter
Pepton	10,01
Triptosa	10,0
Natrium klorida	5,0
Agar	15,0
pH akhir pada suhu 25°C : 7,3 ±	

Seperti umumnya media nutrisi, agar darah mengandung satu atau lebih sumber protein, garam dan ekstrak vitamin dan mineral dari daging sapi. Selain bahan-bahan ini, 5% darah mamalia yang telah didefibrinasi juga dimasukkan kedalam media. Komposisi dasar pada media agar darah dapat dilihat pada Tabel 1. diatas.

5. Air Tebu

a. Pengertian

Tebu (*Saccharum officinarum L.*) adalah tanaman yang tumbuh di perkebunan semusim. Di Indonesia, banyak petani kecil yang menanam tanaman tebu secara mandiri atau bekerja sama dengan pabrik gula. Pabrik gula menyewa lahan pertanian penduduk dan mempekerjakan tenaga kerja mereka untuk mengembangkan tanaman tebu untuk memenuhi kebutuhan bahan baku mereka. Tebu (*Saccharum officinarum L.*) adalah tanaman yang digunakan

untuk membuat gula. Tanaman ini tidak dapat tumbuh kecuali di lingkungan tropis. Jenis tanaman ini adalah rumput-rumputan. Pulau Jawa dan Sumatra adalah tempat tebu yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia (Sulistiyanto, dkk., 2021).



Gambar 12. Pohon Tebu
Sumber: <https://mediaperkebunan.id>

b. Taksonomi

Tanaman tebu termasuk salah satu anggota dari Familia poaceae atau lebih dikenal sebagai kelompok rumput-rumputan. Banyak ahli berpendapat bahwa tanaman tebu berasal dari Irian, dan dari sana menyebar ke kepulauan indonesia yang lain. Tebu (*Saccharum officinarum*) merupakan tanaman perkebunan semusim yang tumbuh di dataran rendah daerah tropika dan dapat tumbuh juga di sebagian daerah subtropika. Manfaat utama tebu adalah sebagai bahan baku pembuatan gula pasir. Ampas tebu atau lazimnya disebut bagasse adalah hasil samping dari proses ekstraksi cairan tebu yang berasal dari bagian batang tanaman tebu. Klasifikasi tebu menurut Tarigan dan Sinulingga (2019) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Sub Kingdom: Tracheobionta

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Sub Kelas : Commelinidae

Ordo : Poales

Famili : Graminae atau Poaceae

Genus : Saccharum

Spesies : *Saccharum officinarum* Linn

c. Kandungan

Tebu dibudidayakan sebagai salah satu tanaman penghasil bahan pemanis (sukrosa) yang tersimpan dalam batang tebu dan merupakan bahan penghasil gula kristal melalui proses industri. Menurut Tabel Komposisi Pangan Indonesia (TKPI) dalam batang tebu terkandung 69-76% air, zat gizi makro diantaranya 8-16% sukrosa, 11-16% serat, energi 25,0 kkl, protein 4,6 g, lemak 0,4 g, karbohidrat 3,0 kkl, kalori 40,0 kal, serta zat gizi mikro meliputi fosfat 80,0 µg, besi 2,00 mg, vitamin C 50,0 mg, vitamin B 0,1 mg dan asam amino. Sebelum diolah, batang tebu mengandung 187 miligram kalsium, 56 miligram fosfor, 4,8 miligram zat besi, 757 miligram kalium, dan 97 miligram natrium (Leny dkk., 2014).



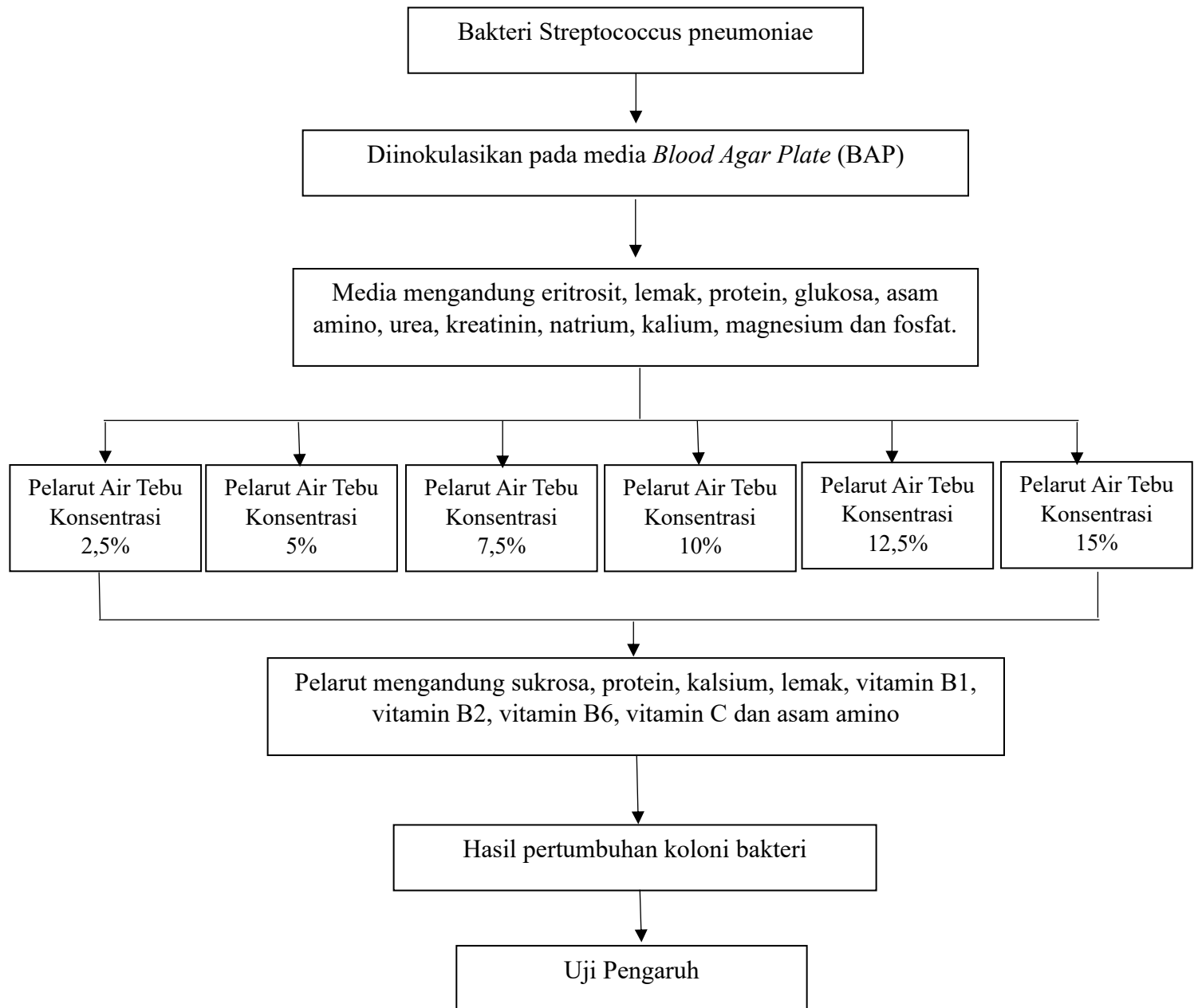
Gambar 13. Batang Tebu
Sumber: <https://mediatani.co>

d. Manfaat Air Tebu

Berikut adalah manfaat - manfaat air tebu, yaitu:

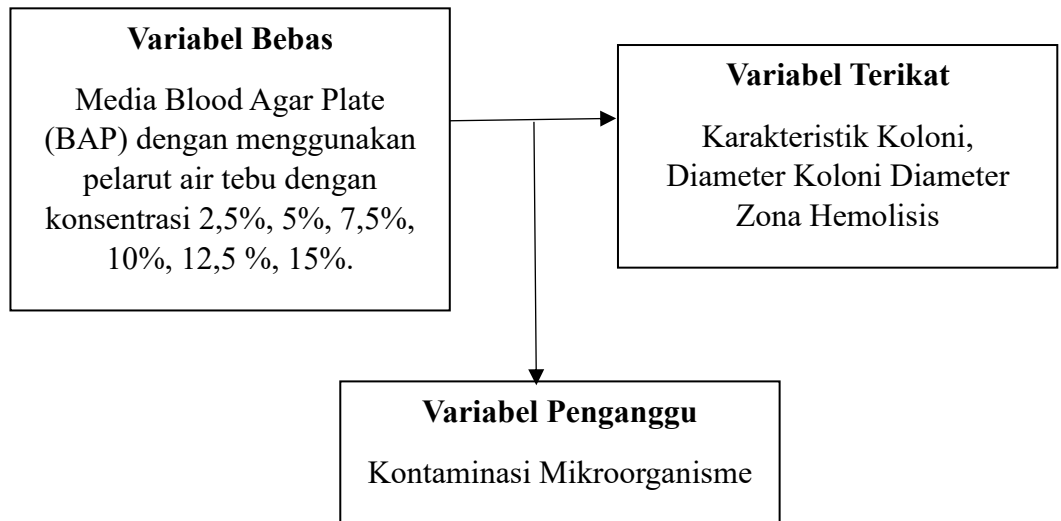
- 1) Mengontrol kadar gula darah
- 2) Membantu melawan kanker
- 3) Meningkatkan kekuatan tulang dan gigi
- 4) Melancarkan pencernaan
- 5) Menambah stamina
- 6) Menurunkan berat badan
- 7) Mencegah kerusakan sel darah
- 8) Detoks racun
- 9) Menjaga kesehatan ginjal
- 10) Mengelola stres dan atasi insomnia
- 11) Menjaga stabilitas tekanan darah
- 12) Meningkatkan sistem kekebalan tubuh
- 13) Menjaga keseimbangan pH tubuh
- 14) Menjaga Kesehatan serta kecantikan rambut dan wajah.
- 15) Mencegah radang dan infeksi kulit

B. Kerangka Teori



Gambar 14. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 15. Hubungan antar variabel

D. Hipotesis

Media *Blood Agar Plate* (BAP) menggunakan pelarut air tebu (*Saccharum officinarum* L.) dengan konsentrasi tertentu dapat menyuburkan pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *True Experiment design*, karena peneliti menggunakan sampel yang dipilih secara random dan variabel luar yang dapat mengganggu jalannya eksperimen dapat dikendalikan (Sugiyono, 2017). Penelitian ini dilakukan eksperimen pembuatan media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan berbagai konsentrasi air tebu sebagai pelarut. Media yang telah dibuat tersebut kemudian dilakukan inokulasi bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Variabel terikat (variabel dependen) pada penelitian ini adalah hasil nilai diameter koloni dan diameter zona hemolisis *Streptococcus pneumoniae*.

Desain penelitian ini adalah *Posttest-Only Control Design*, karena pada penelitian ini terdapat 2 kelompok sampel yaitu kelompok sampel kontrol dan kelompok sampel eksperimen, serta kedua kelompok sampel tersebut diambil secara random (Sugiyono, 2017). Desain penelitian ini terdapat posttest 1 dan posttest 2. Kelompok data posttest 1 adalah hasil pengukuran diameter koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang ditanam pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades. Kelompok data 2 posttest 2 adalah hasil pengukuran diameter koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* ditanam pada *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan variasi konsentrasi.

Desain penelitian ditunjukkan sebagai berikut:

Desain penelitian

Tabel 2. Desain Penelitian

	Perlakuan	<i>Posttest</i>
R (Kelompok Eksperimen)	X	O1
R (Kelompok Kontrol)	Y	O2

Sumber: Sugiyono, 2017.

Keterangan :

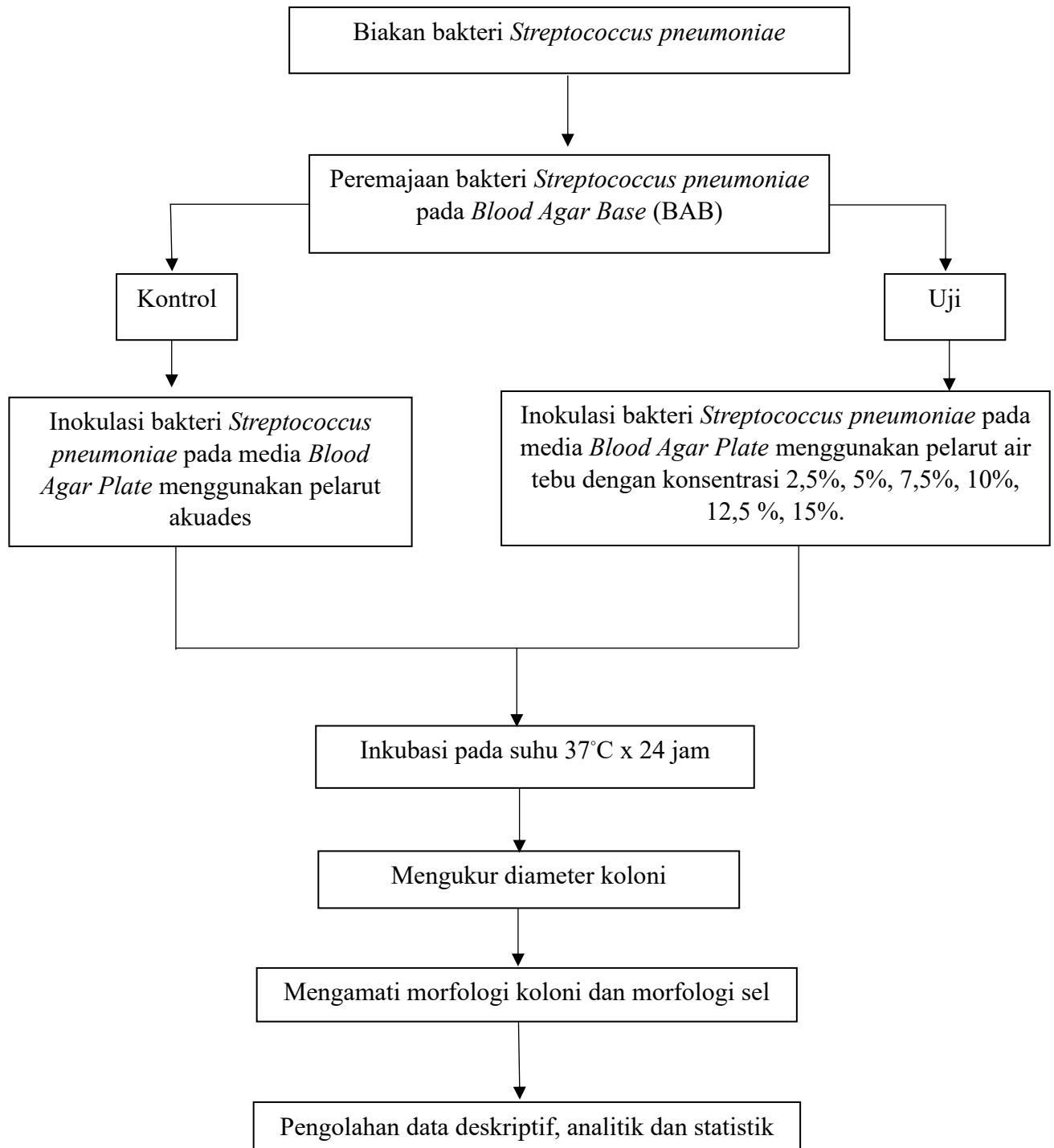
X : Perlakuan terhadap sampel yaitu pelarut pada media BAP menggunakan air tebu.

Y : Perlakuan terhadap kontrol yaitu pelarut pada media BAP menggunakan akuades.

O1 : Hasil pengukuran diameter koloni dan zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media BAP pelarut variasi konsentrasi air tebu.

O2 : Hasil pengukuran diameter koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media BAP pelarut akuades

E. Rancangan Percobaan



Gambar 16. Rancangan Percobaan

F. Subyek dan Obyek

1. Subyek Penelitian

Subyek dari penelitian ini adalah biakan murni dari bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret (UNS) dan telah dilakukan uji identifikasi di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

2. Obyek Penelitian

Obyek penelitian ini adalah air tebu (*Saccharum officinarum L.*) berasal dari batang tebu jenis tebu hijau dan tebu madu yang berkualitas baik, batang besar, lurus, segar, ruas normal dan permukaannya halus tanpa kotoran yang didapatkan dari pedagang kaki lima di daerah Kota Yogyakarta.

G. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga April 2025 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

H. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi air tebu sebagai pelarut media *Blood Agar Plate* (BAP).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil pengukuran diameter koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

4. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah:

- a. Kualitas tebu
- b. Kerentanan kontaminasi pada media Blood Agar Plate dengan pelarut air tebu (*Saccharum officinarum L.*)
- c. Kerentanan kontaminasi pada alat yang digunakan

I. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Media BAP dengan pelarut air tebu adalah media agar darah domba dengan bahan baku *Blood Agar Base* (BAB) yang dilarutkan menggunakan air tebu.
2. Media BAP menggunakan pelarut air tebu dengan konsentrasi 2,5% adalah media agar darah domba dengan bahan baku *Blood Agar Base* (BAB) yang dilarutkan menggunakan air tebu dengan konsentrasi 2,5%.
3. Media BAP menggunakan pelarut air tebu dengan konsentrasi 5% adalah media agar darah domba dengan bahan baku *Blood Agar Base* (BAB) yang dilarutkan menggunakan air tebu dengan konsentrasi 5%.
4. Media BAP menggunakan pelarut air tebu dengan konsentrasi 7,5% adalah media agar darah domba dengan bahan baku *Blood Agar*

Base (BAB) yang dilarutkan menggunakan air tebu dengan konsentrasi 7,5%.

5. Media BAP menggunakan pelarut air tebu dengan konsentrasi 10% adalah media agar darah domba dengan bahan baku *Blood Agar Base* (BAB) yang dilarutkan menggunakan air tebu dengan konsentrasi 10%.
6. Media BAP menggunakan pelarut air tebu dengan konsentrasi 12,5% adalah media agar darah domba dengan bahan baku *Blood Agar Base* (BAB) yang dilarutkan menggunakan air tebu dengan konsentrasi 12,5%.
7. Media BAP menggunakan pelarut air tebu dengan konsentrasi 15% adalah media agar darah domba dengan bahan baku *Blood Agar Base* (BAB) yang dilarutkan menggunakan air tebu dengan konsentrasi 15%.
8. Hasil pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* adalah hasil pertumbuhan koloni yang tumbuh subur pada media *Blood Agar Plate* (BAP).
9. Koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* merupakan kumpulan bakteri sejenis hasil reproduksi yang mengumpul pada satu medium dari kultur satu sel bakteri (Dharmawangsa, 2019). Karakteristik koloni bakteri adalah ciri-ciri yang dimiliki oleh koloni bakteri tersebut. Karakteristik morfologi koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang tumbuh pada masing-masing media *Blood Agar*

Plate (BAP) berbentuk bulat, berwarna putih hingga kuning emas, cembung, tepian rata dan mengkilat (Gupte, 1990). Karakteristik morfologi koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* sebagai data pendamping kemudian data dideskripsikan dalam tabel data primer. Suhu inkubasi adalah suhu yang diperlukan mikroorganisme untuk tumbuh dengan baik. *Streptococcus pneumoniae* tumbuh optimal pada temperatur 37°C (Jawetz dkk, 2005).

10. Hasil pengukuran diameter koloni adalah hasil pengukuran diameter koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang tumbuh pada media *Blood Agar Plate* (BAP) yang diukur secara radial yaitu mengukur suatu ukuran panjang yang melewati titik pusat kemudian dinyatakan dalam milimeter (mm).
11. Suhu inkubasi atau temperatur inkubasi pertumbuhan bakteri dalam penelitian ini adalah 37°C.
12. Waktu inkubasi adalah waktu yang diperlukan mikroorganisme untuk tumbuh dan dapat diamati dengan baik. Waktu inkubasi yang optimal untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* yaitu selama 24-48 jam (Krihariyani dkk, 2016). Waktu yang diperlukan untuk inkubasi bakteri yang kemudian dilakukan pengamatan yaitu selama 48 jam untuk mendapatkan hasil pertumbuhan yang baik.
13. Steriliasi alat dan media adalah proses pada instrumen yang bertujuan untuk membunuh seluruh mikroorganisme yang bersifat kontaminan (Jawetz, 2005). Sterilisasi alat menggunakan cara

pemanasan basah yaitu dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit hingga terbebas dari mikroorganisme lain. Alat atau bahan yang akan digunakan dibungkus kertas biasa sebelum dimasukkan kedalam autoklaf dan diletakkan dalam posisi rebah. Metode sterilisasi dengan menggunakan udara panas atau disebut oven diperlukan suhu 160-170°C selama 1-2 jam (Tim Mikrobiologi FK Unibraw, 2003).

14. Kemurnian biakan bakteri merupakan biakan murni bakteri yang bebas dari bakteri atau mikroorganisme lain (Jawetz dkk, 2005). Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biakan murni *Streptococcus pneumoniae*.
15. Kontaminan adalah bakteri selain *Streptococcus pneumoniae* yang dapat tumbuh pada media BAP air tebu dan BAP akuades sehingga dapat mempengaruhi hasil. Hal ini dapat dikendalikan dengan metode aseptik dan sterilisasi alat dan bahan. Koloni bakteri kontaminan tidak dimasukkan dalam perhitungan.

J. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data adalah suatu langkah utama untuk mendapatkan data penelitian (Sugiyono, 2017). Terdapat dua sumber data yaitu, data primer dan data sekunder. Data primer adalah sumber data yang memberikan data secara langsung kepada pengumpulan data. Sedangkan, data sekunder adalah sumber data yang memberikan data secara tidak langsung kepada pengumpul data (Sugiyono, 2017). Jenis data penelitian ini

adalah menggunakan jenis data primer yaitu data yang dikumpulkan oleh peneliti secara langsung dari sumber datanya. Data diperoleh dari hasil percobaan di laboratorium berupa hasil pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang diukur diameter koloninya pada media BAP air tebu dan media BAP akuades dengan masing-masing 16 kali ulangan atau sebanyak 112 data. Teknik yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan *Simple Random Sampling*.

K. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

- a. Timbangan neraca
- b. Bunsen
- c. Cawan petri
- d. Tabung Erlenmeyer
- e. Gelas kimia
- f. Gelas ukur
- g. Ose bulat
- h. Jangka sorong
- i. Sendok penyu
- j. Kertas timbang
- k. Mikroskop
- l. Lemari es
- m. Kapas
- n. Tisu

- o. Pipet ukur
- p. Kertas saring
- q. Korek api
- r. *Object glass*
- s. Autoclave
- t. Oven
- u. Inkubator

2. Bahan

- a. Aquadest
- b. Air tebu
- c. Bahan baku *Blood Agar Base*
- d. Darah domba
- e. Spiritus
- f. Kristal violet
- g. Iodin
- h. Alkohol
- i. Safranin
- j. Biakan murni bakteri *Streptococcus pneumoniae*
- k. NaCl Isotonis
- l. Standar McFarland 0,5 %

L. Uji Validitas dan Reliabilitas

Uji validitas dan reliabilitas instrumen perlu dilakukan untuk memperoleh hasil penelitian yang valid dan reliabel. Valid yaitu alat ukur

tersebut digunakan untuk mengukur apa yang seharusnya diukur. Instrumen uji validitas dan reliabilitas instrumen perlu dilakukan untuk memperoleh hasil penelitian yang valid dan reliabel. Valid yaitu alat ukur tersebut digunakan untuk mengukur apa yang seharusnya diukur. Instrumen valid adalah alat ukur yang digunakan menghasilkan data yang valid, sehingga terdapat kesamaan data yang terkumpul dengan data yang sesungguhnya. Sedangkan instrumen reliabel adalah alat ukur yang menghasilkan data yang sama dalam beberapa kali pengukuran atau konsisten (Sugiyono, 2015).

Penelitian ini menggunakan jangka sorong sebagai alat ukur diameter koloni bakteri dan dinyatakan dalam milimeter. Selama proses perhitungan diameter koloni bakteri dapat dipastikan tidak ada koloni yang terhitung ulang. Hal tersebut diatasi dengan cara menandai koloni bakteri yang sudah terhitung dengan spidol. Pengulangan pengukuran dilakukan masing-masing sebanyak 16 kali pada media BAP dengan variasi konsentrasi air tebu dan 16 kali pada media BAP dengan pelarut akuades.

M. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

a. Perizinan

Melakukan perizinan untuk dapat melakukan penelitian di lingkungan Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta terutama di Laboratorium Mikrobiologi.

b. Kaji Etik

Kaji etik dilakukan agar dapat melakukan penelitian di lingkungan Polteknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta.

c. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dapat dilakukan dengan cara mencuci alat, kemudian dikeringkan dan dibungkus menggunakan kertas HVS dan kemudian dimasukkan kedalam oven pada suhu 110°C selama 8 jam seperti: cawan petri, pipet, tabung, labu erlenmeyer. Ose bulat, lampu spritus, rak tabung, kertas pembungkus, termometer, neraca teknis, jangka sorong, kertas timbang, *ice box*, inkubator, pipet pasteur.

d. Persiapan Bahan Darah dan Air Tebu

1) Darah Domba

Penelitian ini menggunakan darah domba yang diambil secara aseptis pada bagian leher domba.

2) Air Tebu

Penelitian ini menggunakan air tebu (*Saccharum officinarum L.*) sebagai pelarut media Blood Agar Plate (BAP). Tebu yang digunakan adalah tebu yang dari batang berkualitas baik dan permukaannya halus tanpa kotoran. Tebu kemudian digiling sehingga menghasilkan air tebu dan disaring menggunakan kertas saring agar terpisah dari kotoran yang ada.

2. Pembuatan Media

a. Media *Blood Agar Plate* (BAP) Akuades

- 1) Menimbang bahan baku *Blood Agar Plate* sebanyak 16 gram, kemudian memasukkan kedalam erlenmeyer.
- 2) Menambahkan air akuades sebanyak 400 ml dan melarutkan hingga homogen.
- 3) Menutup erlenmeyer dengan kapas dan dikemas menggunakan plastik untuk kemudian disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.
- 4) Menunggu hingga 15 menit hingga suhu turun dan mengeluarkan sisa-sisa uap dan air. Media dibiarkan hingga hangat kira-kira suhu 50°C.
- 5) Menambahkan darah domba suhu kamar sebanyak 7% (28 ml/400 ml media) kemudian mencampurkan hingga homogen.
- 6) Menuangkan kedalam cawan petri steril secara aseptik kurang lebih sebanyak 20 ml per cawan.
- 7) Menunggu hingga media memadat.
- 8) Membungkus media yang sudah memadat dengan kertas secara terbalik agar uap air hasil kondensasi tidak mengenai media.
- 9) Menyimpan media kedalam kulkas karena belum segera digunakan.

b. Media *Blood Agar Plate* (BAP) Air Tebu

- 1) Menimbang bahan baku *Blood Agar Plate* sebanyak 16 gram, kemudian memasukkan ke dalam erlenmeyer.
- 2) Membuat konsentrasi air tebu 2,5% yaitu 2,5ml air tebu per 100ml akuades, karena dalam labu erlenmeyer dibutuhkan 400ml maka $2,5\text{ml} \times 4 = 10\text{ml}$, sehingga didapatkan konsentrasi 2,5% sebesar 10ml air tebu
- 3) Membuat konsentrasi air tebu 5% yaitu 5ml air tebu per 100ml akuades, karena dalam labu erlenmeyer dibutuhkan 400ml maka $5\text{ml} \times 4 = 20\text{ml}$, sehingga didapatkan konsentrasi 5% sebesar 20ml air tebu
- 4) Membuat konsentrasi air tebu 7,5% yaitu 7,5ml air tebu per 100ml akuades, karena dalam labu erlenmeyer dibutuhkan 400ml maka $7,5\text{ml} \times 4 = 30\text{ml}$, sehingga didapatkan konsentrasi 7,5% sebesar 30ml air tebu
- 5) Membuat konsentrasi air tebu 10% yaitu 10ml air tebu per 100ml akuades, karena dalam labu erlenmeyer dibutuhkan 400ml maka $10\text{ml} \times 4 = 40\text{ml}$, sehingga didapatkan konsentrasi 10% sebesar 40ml air tebu
- 6) Membuat konsentrasi air tebu 12,5% yaitu 12,5ml air tebu per 100ml akuades, karena dalam labu erlenmeyer dibutuhkan 400ml maka $12,5\text{ml} \times 4 = 50\text{ml}$, sehingga didapatkan konsentrasi 12,5% sebesar 50ml air tebu

- 7) Membuat konsentrasi air tebu 15% yaitu 15ml air tebu per 100ml akuades, karena dalam labu erlenmeyer dibutuhkan 400ml maka $15\text{ml} \times 4 = 60\text{ml}$, sehingga didapatkan konsentrasi 15% sebesar 60ml air tebu
- 8) Tambahkan air tebu sebanyak 10ml dan akuades sebanyak 390ml dan melarutkan hingga homogen.
- 9) Tambahkan air tebu sebanyak 20ml dan akuades sebanyak 380ml dan melarutkan hingga homogen.
- 10) Tambahkan air tebu sebanyak 30ml dan akuades sebanyak 370ml dan melarutkan hingga homogen.
- 11) Tambahkan air tebu sebanyak 40ml dan akuades sebanyak 360ml dan melarutkan hingga homogen.
- 12) Tambahkan air tebu sebanyak 50ml dan akuades sebanyak 350ml dan melarutkan hingga homogen.
- 13) Tambahkan air tebu sebanyak 60ml dan akuades sebanyak 340ml dan melarutkan hingga homogen.
- 14) Menutup erlenmeyer dengan kapas dan dikemas menggunakan plastik untuk kemudian disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.
- 15) Menunggu hingga 15 menit hingga suhu turun dan mengeluarkan sisa-sisa uap dan air. Media dibiarkan hingga hangat kira-kira suhu 50°C .

- 16) Menambahkan darah domba suhu kamar sebanyak 7% (28 ml/400 ml media) kemudian mencampurkan hingga homogen.
- 17) Menuangkan ke dalam cawan petri steril secara aseptik kurang lebih sebanyak 20 ml per cawan dari setiap konsentrasi.
- 18) Menunggu hingga media memadat.
- 19) Membungkus media yang sudah memadat dengan kertas secara terbalik agar uap air hasil kondensasi tidak mengenai media.
- 20) Menyimpan media kedalam kulkas karena belum segera digunakan.

3. Persiapan Bakteri Uji

- a. Isolat murni bakteri *Streptococcus pneumoniae* ditanam pada media BAB untuk diremajakan dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- b. Identifikasi pada media BAB

4. Pembuatan Suspensi Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

- a. Mengambil biakan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dari media BAB dengan ose bulat.
- b. Larutkan dalam larutan NaCl.
- c. Masukkan larutan yang sudah tercampur dengan NaCl ke dalam kuvet sebanyak 2 ml.

- d. Ukur nilai absorbannya dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui kekeruhan pada suspensi bakteri.
5. Inokulasi Bakteri pada *Blood Agar Plate* (BAP) dengan suspensi bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
 - a. Suspensi bakteri di pipet menggunakan mikropipet 5µl diletakan di atas tengah media, kemudian disebarakan ose bulat yang telah disterilkan membentuk struktur radial.
 - b. Inokulasi dilakukan sebanyak 2 kali pada media BAP dengan pelarut akuades dan sebanyak 2 kali pada media BAP dengan pelarut masing-masing konsentrasi air tebu, sehingga terdapat 2 plate media BAP dengan pelarut akuades dan 2 plate media BAP dengan pelarut air tebu pada masing-masing konsentrasi.

6. Pengamatan Hasil Pertumbuhan Bakteri

Mengukur diameter koloni dan diameter zona hemolisis secara radial menggunakan jangka sorong dan mengamati morfologi koloni bakteri: bentuk, warna, tepian, permukaan, sifat dan morfologi sel: bentuk, warna. Karakteristik morfologi koloni bakteri diamati secara makroskopik. Ulangan pengamatan dilakukan sebanyak 16 kali.

N. Manajemen Data

1. Penyajian Data

Pengolahan data dilakukan ketika data terkumpul secara keseluruhan. Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah data primer. Data primer merupakan data yang diperoleh langsung dari penelitian. Data hasil rerata diameter koloni dan diameter zona hemolisis disajikan dalam bentuk diagram dalam satuan milimeter. Sedangkan untuk data pengamatan morfologi koloni bakteri akan disajikan dalam bentuk dokumentasi.

Tabel 3. Organisasi data

	Konsentrasi						
	Akuades	2,5%	5%	7,5%	10%	12,5%	15%
Diameter koloni (mm)							
Diameter zona hemolisis (mm)							

2. Analisis Deskriptif

Data yang telah terkumpul disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan karakteristik pertumbuhan diameter bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang telah tumbuh pada masing-masing media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut akuades sebagai kontrol dan *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut air tebu dengan variasi konsentrasi sebagai bahan uji. Analisis deskriptif dilakukan pada semua data yang kemudian divisualisasikan dalam grafik batang untuk menggambarkan dengan jelas perbedaan pertumbuhan diameter bakteri.

3. Analisis Analitik

Data yang diperoleh merupakan hasil pengukuran diameter koloni bakteri dan morfologi bakteri pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut akuades sebagai kontrol dan *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut air tebu dengan variasi konsentrasi sebagai bahan uji. Data yang diperoleh kemudian dihitung nilai rerata.

4. Analisis Statistik

Data yang didapatkan merupakan hasil pengukuran diameter koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut akuades sebagai kontrol dan media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut air tebu variasi konsentrasi sebagai bahan uji yang diuji normalitas menggunakan IBM SPSS Statistic 25 untuk mengetahui sebaran data atau uji normalitas data. Hipotesis dalam pengambilan keputusan uji normalitas data adalah sebagai berikut :

H_0 : Data berdistribusi normal bila Asymp.Sig $\geq 0,05$

H_a : Data berdistribusi normal bila Asymp.Sig $< 0,05$

Data yang berdistribusi normal diuji statistik Anova untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi air tebu pada media *Blood Agar Plate* (BAP) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*, dengan hipotesis sebagai berikut:

H_0 : Tidak ada perbedaan pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan variasi konsentrasi air tebu ($\text{Sig} \geq 0,05$)

H_a : Ada perbedaan pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan variasi konsentrasi air tebu ($\text{Sig} < 0,05$)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian dengan judul “Pengaruh Variasi Konsentrasi Air Tebu (*Saccharum Officinarum L.*) Sebagai Pelarut Media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pneumoniae*” ini telah dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta pada bulan April-Mei 2025.

Bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang digunakan untuk penelitian ini adalah biakan murni bakteri *Streptococcus pneumoniae ATCC (American Type Culture Collection) 49619*. Koloni bakteri kemudian dibuat suspensi menggunakan NaCl 0,85% steril dengan tingkat kekeruhannya disamakan dengan standar 0,5 unit Mc Farland. Setelah dibuat suspensi, bakteri *Streptococcus pneumoniae* kemudian ditanam pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades sebagai kontrol dan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan variasi konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5% dan 15% menggunakan metode cawan gores. Kemudian sediaan diinkubasi selama 48 jam. Pengamatan pertumbuhan diameter koloni bakteri dilakukan pada saat koloni berumur 48 jam dengan cara mengukur diameter koloni bakteri yang tumbuh menggunakan jangka sorong.

Hasil penelitian ini diperoleh melalui pengamatan karakteristik secara mikroskopis dan pengamatan koloni secara makroskopis dilakukan 2

pengukuran dengan mengukur diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Hasil pengamatan didapatkan 224 data diantaranya 112 data diameter koloni dan 112 data diameter zona hemolisis dengan 7 jenis kelompok, yaitu kelompok media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10% 12,5%, 15% dan kelompok media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades. Masing-masing kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 16 kali terhadap 2 pengukuran.

Hasil pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10% 12,5%, 15% ditunjukkan pada Gambar 17.

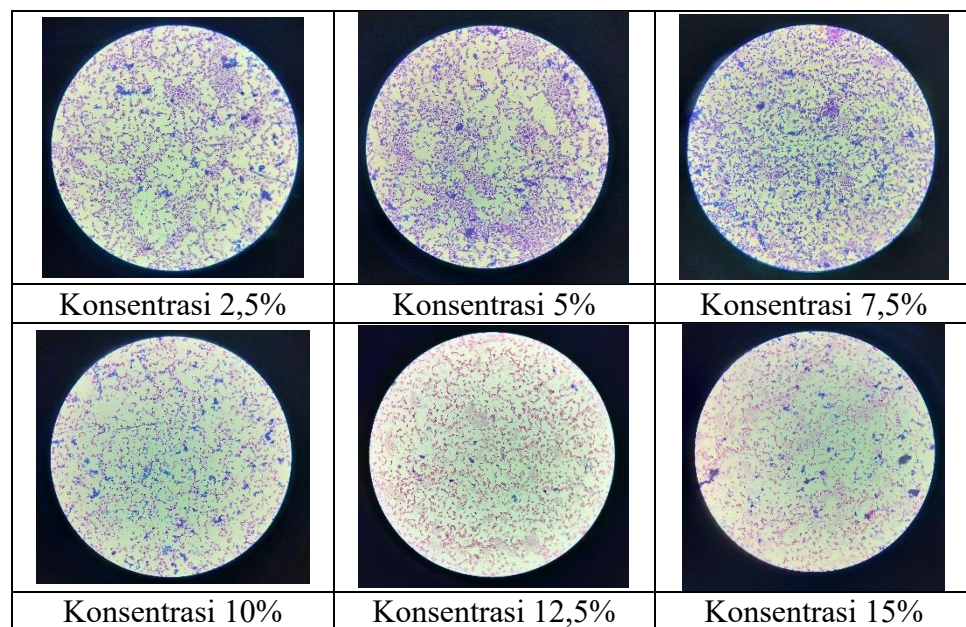
		
Konsentrasi 2,5%	Konsentrasi 5%	Konsentrasi 7,5%
		
Konsentrasi 10%	Konsentrasi 12,5%	Konsentrasi 15%

Gambar 17. Hasil pertumbuhan diameter koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Gambar 17 menunjukkan bahwa hasil pertumbuhan koloni *Streptococcus pneumoniae* memiliki morfologi koloni berwarna keabu-

abuan, berbentuk bulat kecil-kecil, permukaan halus, terdapat cekungan di tengah koloni dan dikelilingi oleh zona hijau akibat aktivitas alfa hemolitik.

Hasil pengamatan mikroskopis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10% 12,5%, 15% dan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades ditunjukkan pada Gambar 18.



Gambar 18. Hasil pengamatan mikroskopis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada perwarnaan gram

Gambar 18. menunjukkan bahwa karakteristik sel bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang ditumbuhkan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut berbagai konsentrasi air tebu adalah sama berukuran kecil, berbentuk bulat dengan formasi berpasangan (diplokoki), berwarna ungu, dan bersifat gram negatif.

Tabel 4. Hasil pengukuran diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* media BAP pelarut akuades dan pelarut variasi konsentrasi air tebu.

		Konsentrasi							
		Aquades	2.5%	5%	7,5%	10%	12,5%	15%	
Diameter Koloni (mm)		0,90	1,60	1,50	1,60	1,20	1,40	1,50	
		0,90	1,50	1,30	1,50	1,30	1,70	1,30	
		0,50	1,60	2,10	1,80	1,40	1,60	1,50	
		0,80	1,50	1,80	1,50	1,40	1,40	1,20	
		0,60	1,40	1,20	1,60	1,10	1,40	1,20	
		0,70	1,50	1,10	1,50	1,20	1,30	1,30	
		0,70	1,20	1,50	1,70	1,10	1,60	1,40	
		0,80	1,30	1,30	1,70	1,30	1,10	1,20	
		1,00	1,50	1,20	1,40	1,20	1,60	1,00	
		0,70	1,10	1,50	1,70	1,30	1,70	1,10	
		0,60	1,40	1,20	1,60	1,40	1,30	1,00	
		1,20	1,10	1,00	1,60	1,10	1,40	1,00	
		1,00	1,30	1,10	1,70	1,20	1,70	1,20	
		0,80	1,30	0,80	1,80	1,50	1,50	1,50	
		1,00	1,20	1,20	1,60	1,10	1,60	1,60	
		1,00	1,30	1,20	1,60	1,20	1,60	1,20	
		0,90	1,60	1,50	1,60	1,20	1,60	1,50	
	Diameter zona hemolisis (mm)		1,80	2,70	2,40	2,00	1,80	2,70	3,60
			2,00	2,70	2,10	2,50	1,90	2,70	3,10
			1,50	2,40	1,70	2,50	2,00	2,50	2,30
		1,70	3,40	2,70	3,30	1,80	2,80	3,13	
		1,70	2,80	2,00	3,10	1,30	2,70	2,10	
		1,80	2,40	1,60	2,30	1,30	2,20	2,40	
		1,80	2,70	1,90	2,30	1,90	2,30	1,80	
		1,70	3,10	1,70	2,40	1,60	2,40	2,00	
		1,80	2,30	1,60	2,30	1,30	2,20	1,60	
		1,70	2,10	1,70	2,70	1,40	2,60	1,90	
		1,40	2,60	1,80	2,60	1,80	2,20	2,60	
		2,00	1,60	1,70	2,50	1,90	2,50	2,00	
		1,80	2,30	1,80	2,90	2,00	2,60	3,00	
		1,70	2,10	2,20	3,40	1,90	2,70	2,30	
		1,70	2,10	1,40	3,20	1,60	2,50	2,70	
	1,70	2,40	1,70	3,20	2,20	3,40	2,50		

Hasil pengukuran diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri

Streptococcus pneumoniae pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air

tebu dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10% 12,5%, 15% dan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades ditunjukkan pada Tabel 4.

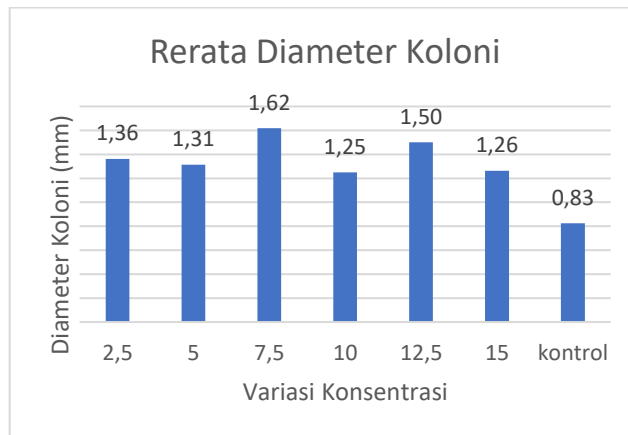
Hasil analisis rerata diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10% 12,5%, 15% dan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis rerata diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri Streptococcus pneumoniae pada media Blood Agar Plate (BAP)

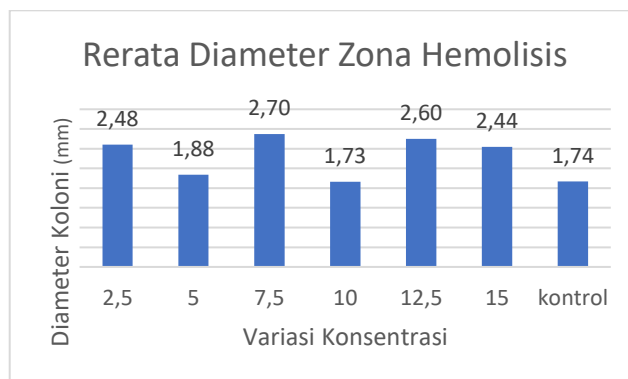
	BAP Pelarut Akuades	BAP Pelarut Variasi Konsentrasi Air Tebu					
		2,5%	5%	7,5%	10%	12%	15%
Rerata Diameter Koloni (mm)	0,83	1,36	1,31	1,62	1,25	1,50	1,26
Rerata Diameter Zona Hemolisis (mm)	1,74	2,48	1,88	2,70	1,73	2,60	2,44

Tabel 5. menunjukkan perbandingan hasil pengukuran rerata diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades dan media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10% 12,5%, 15%.

Hasil perbandingan rerata diameter koloni dan diameter zona hemolisis menggunakan grafik ditunjukkan pada Gambar 19 dan Gambar 20



Gambar 19. Rerata Diameter Koloni



Gambar 20. Rerata Diameter Zona Hemolisis

Gambar 19 dan Gambar 20 menunjukkan didapatkan ukuran diameter koloni terbesar pada konsentrasi 7,5% yaitu 1,62mm. Adapun rerata diameter zona hemolisis didapatkan ukuran diameter zona hemolisis terbesar pada konsentrasi 7,5% yaitu 2,70mm.

Hasil analisis uji pengaruh menggunakan *IBM SPSS Statistics 25* dari kelompok data diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades dan media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10% 12,5%, 15% ditunjukkan pada Tabel no.

Tabel 6. Hasil analisis statistik SPSS 25

Uji Statistik	Pengukuran Diameter Koloni dan Diameter Zona Hemolisis	Hasil Uji (Sig.)	Dinyatakan
Uji Normalitas Data (<i>Shapiro- Wilk</i>)	Akuades	0,694	Semua kelompok data berdistribusi normal
	Konsentrasi 2,5%	0,247	
	Konsentrasi 5%	0,109	
	Konsentrasi 7,5%	0,269	
	Konsentrasi 10%	0,085	
	Konsentrasi 12,5%	0,053	
	Konsentrasi 15%	0,171	
Uji Pengaruh (<i>One-Way Anova</i>)		0,000	Ada pengaruh yang signifikan

Tabel 6 menunjukkan bahwa hasil uji statistik data pengukuran diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades dan media *Blood Agar Plate* (BAP) dilarutkan menggunakan air tebu dengan variasi konsentrasi diantaranya konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5% dan 15% sesuai dengan uji normalitas bahwa data berdistribusi normal. Hasil analisis Anova diperoleh signifikansi 0,000 yang menunjukkan adanya pengaruh bermakna berbagai variasi konsentrasi air tebu terhadap hasil pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

B. Pembahasan

Media *Blood Agar Plate* (BAP) adalah media padat umum, diperkaya dan diferensial karena dalam proses pembuatannya dilakukan penambahan darah yang telah didefibrinasi. Media ini digunakan untuk menumbuhkan

bakteri gram positif seperti *Streptococcus pneumoniae*. Komponen utama media ini adalah pepton, triptosa, natrium klorida, agar dan darah domba 5%. Pada penelitian ini media *Blood Agar Plate* (BAP) dilarutkan menggunakan air tebu dengan variasi konsentrasi diantaranya konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5% dan 15%. Selain dapat berperan sebagai pelarut media pertumbuhan, air tebu juga berpotensi menjadi pelarut pengganti sekaligus pengkaya nutrisi media *Blood Agar Plate* (BAP). Hal ini selaras dengan nutrisi yang terkandung dalam air tebu.

Air tebu memiliki kandungan 69-76% air, zat gizi makro diantaranya 8-16% sukrosa, 11-16% serat, energi 25,0 kkal, protein 4,6 g, lemak 0,4 g, karbohidrat 3,0 kkal, kalori 40,0 kkal, serta zat gizi mikro meliputi fosfat 80,0 µg, besi 2,00 mg, vitamin C 50,0 mg, vitamin B 0,1 mg. Kandungan nutrisi dalam air tebu diharapkan mampu menyuburkan pertumbuhan dan membantu identifikasi bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Hasil pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades dan pelarut air tebu dengan variasi konsentrasi yang diinkubasi selama 48 jam memiliki ciri-ciri atau karakteristik makroskopis yang sama seperti keabu-abuan, muoid atau basah, berbentuk bulat kecil-kecil, permukaan halus, terdapat cekungan di tengah koloni dan dikelilingi oleh zona hijau akibat aktivitas alfa hemolitik. Uji hemolisis menunjukkan bahwa bakteri tetap mampu menghemolisis darah pada media yang berarti berbagai konsentrasi air tebu yang terkandung pada media tidak menghambat proses hemolisis bakteri. Koloni yang tumbuh pada media

Blood Agar Plate (BAP) pelarut akuades dan pelarut air tebu dengan variasi konsentrasi kemudian dilakukan pengecatan gram untuk mengetahui karakteristik mikroskopis menggunakan kristal violet, iodine, etanol dan safranin. Didapatkan karakteristik yang sama yaitu berwarna ungu, berbentuk bulat atau *coccus* dengan formasi berpasangan (diplokokki) dan tidak memiliki spora.

Hasil pengukuran rerata diameter koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades adalah 0,83 mm, sedangkan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan konsentrasi 2,5% sebesar 1,36mm; 5% sebesar 1,31mm; 7,5% sebesar 1,62mm, 10% sebesar 1,25mm; 12,5% sebesar 1,50mm; dan 15% sebesar 1,26mm. Berdasarkan data diatas rerata diameter koloni terbesar teramati pada konsentrasi 7,5% yaitu sebesar 1,62mm, nilai ini menunjukkan selisih sebesar 0,79mm dibandingkan dengan kontrol yang memiliki diameter koloni terkecil yaitu sebesar 0,83mm. Selisih tersebut setara dengan peningkatan sebesar 95,18%. Adapun rerata diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut akuades adalah 1,74mm, sementara pada media *Blood Agar Plate* (BAP) pelarut air tebu dengan konsentrasi 2,5% sebesar 2,48mm; 5% sebesar 1,88mm; 7,5% sebesar 2,70mm, 10% sebesar 1,73mm; 12,5% sebesar 2,60mm; dan 15% sebesar 2,44mm. Hasil rerata diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media dengan diameter zona hemolisis terbesar adalah pada konsentrasi 7,5% sebesar 2,70mm,

terdapat selisih cukup signifikan antara kontrol dengan konsentrasi 7,5% yaitu sebesar 0,96mm atau sebesar 55,17%. Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa rerata diameter koloni dan diameter zona hemolisis terbesar teramati pada konsentrasi 7,5%.

Hasil uji statistik terhadap data pengukuran diameter koloni dan diameter zona hemolisis bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut akuades menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi $0,694 (\geq 0,05)$. Demikian pula, pada media *Blood Agar Plate* (BAP) yang menggunakan pelarut air tebu, seluruh konsentrasi menunjukkan distribusi data yang normal diantaranya konsentrasi 2,5% (nilai signifikansi $0,247 \geq 0,05$); konsentrasi 5% (nilai signifikansi $0,109 \geq 0,05$); konsentrasi 7,5% (nilai signifikansi $0,269 \geq 0,05$); konsentrasi 10% (nilai signifikansi $0,085 \geq 0,05$); konsentrasi 12,5% (nilai signifikansi $0,053 \geq 0,05$); dan konsentrasi 15% (nilai signifikansi $0,171 \geq 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh data memenuhi asumsi normalitas dan dilanjutkan dengan analisis *One-Way Anova* untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh yang signifikan antar konsentrasi. Hasil pengujian menunjukkan nilai signifikansi $0,00 (< 0,05)$ yang berarti terdapat pengaruh yang signifikan antar konsentrasi air tebu sebagai pelarut media *Blood Agar Plate* (BAP) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

Berdasarkan pengamatan makroskopis, pengukuran diameter dan uji statistika diperoleh bahwa terdapat perbedaan signifikan pada pertumbuhan

bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Penyebab perbedaan pertumbuhan bakteri ini karena penambahan nutrisi dari air tebu yang memperkaya media *Blood Agar Plate* (BAP). Kandungan air tebu selaras dengan kebutuhan metabolik bakteri *Streptococcus pneumoniae*, sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan. Sumber nutrisi di dalam media *Blood Agar Plate* (BAP) menggunakan pelarut air tebu lebih kompleks dan lebih kaya dibandingkan dengan akuades yang tidak memiliki nutrisi apapun. Oleh karena itu bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang diinokulasi pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan pelarut air tebu lebih tumbuh subur.

Penelitian ini memiliki tantangan, yaitu laboratorium yang digunakan untuk tempat penelitian belum dilengkapi inkubator CO₂ 5% sedangkan bakteri *Streptococcus pneumoniae* termasuk bakteri kapnofilik yang artinya tumbuh optimal pada lingkungan dengan kadar CO₂ lebih tinggi dari atmosfer normal, oleh karena itu peneliti melakukan alternatif lain pengganti inkubator CO₂ 5% untuk menunjang pertumbuhan optimal dengan metode praktis dan ekonomis, yaitu menggunakan toples lilin (*candle jar*). Metode toples lilin ini adalah membuat atmosfer dalam ruang inkubasi tertutup dengan kadar CO₂ yang tinggi dan oksigen rendah. Sistem kerja ini menggunakan pembakaran lilin kedap udara untuk menghasilkan CO₂ yang dibutuhkan oleh bakteri kapnofilik seperti *Streptococcus pneumoniae*.

Keterbatasan penelitian ini terletak pada tidak diketahuinya kadar nutrisi secara pasti dalam air tebu konsentrasi 7,5% yang menjadi alasan

konsentrasi optimal terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Penulis hanya dapat mengidentifikasi kemungkinan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada setiap konsentrasi air tebu yang digunakan. Zat gizi utama dalam air tebu adalah gula, khususnya sukrosa dengan kadar berkisar antara 8-16%. Pada konsentrasi 2,5% hingga 5% jumlah gula yang tersedia relatif rendah, sehingga hanya sedikit nutrisi tambahan yang tersedia bagi bakteri. Hal ini menyebabkan peningkatan pertumbuhan masih terbatas. Pada konsentrasi 7,5% kadar gula dianggap optimal untuk mempercepat fase logaritmik (eksponensial), sehingga pertumbuhan meningkat secara maksimal. Sebaliknya pada konsentrasi 10% hingga 15% kadar gula yang tinggi dapat menyebabkan efek osmotik yang bersifat hipertonik dimana air dari dalam sel bakteri keluar untuk menyeimbangkan kondisi luar, menyebabkan sel mengalami dehidrasi dan stres sehingga bakteri hanya cukup untuk bertahan hidup. menghambat pertumbuhan karena efek osmotik dan stres sel. Hal tersebut berkaitan dengan aktivitas enzim metabolik bakteri yang berperan dalam pemecahan gula menjadi energi untuk pertumbuhan bakteri. Pada kadar gula yang cukup enzim-enzim metabolik akan bekerja secara optimal untuk menghasilkan energi, sehingga mendukung aktivitas enzim lain seperti autolysin (yang terlibat dalam pembelahan sel) dan neuraminidase (yang membantu bakteri memperoleh nutrisi tambahan dari lingkungan). Namun, apabila gula terlalu rendah atau tinggi, tekanan osmotik tidak seimbang dapat menyebabkan stres bakteri, sehingga aktivitas enzim menurun dan

energi yang dihasilkan hanya untuk mempertahankan kelangsungan hidup dengan pertumbuhan relatif rendah dan tidak optimal.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Air tebu dengan variasi konsentrasi dapat digunakan sebagai pelarut alternatif media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
2. Variasi konsentrasi air tebu yang digunakan sebagai pelarut pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dibandingkan dengan akuades.
3. Konsentrasi optimal air tebu sebagai pelarut pada media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk menyuburkan pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada konsentrasi 7,5%.

B. Saran

1. Teoritis

Bagi peneliti, perlu dilakukan penelitian lanjutan menggunakan bakteri uji lain seperti *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, dan bakteri *Streptococcus* lainnya.

2. Praktis

Bagi peneliti, air tebu dapat digunakan sebagai pelarut alternatif media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk tujuan isolasi, identifikasi dan diferensiasi bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, Y. 2022. Penggunaan Sari Tebu sebagai Medium Pertumbuhan Mikroalga *Aurantiochytrium sp.* yang Diisolasi dari Pulau Pari, Jakarta. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Muhammadiyah Prof dr Hamka.
- Ahli Teknologi Laboratorium Medis. 2016. Media Blood Agar Plate. <https://teknologilaboratoriummedik.com>. Diakses pada tanggal 22 Desember 2024.
- Aini, N. 2015. Media Alternatif Untuk Pertumbuhan Jamur Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Antushevich, H. 2020. Interplays between inflammasomes and viruses, bacteria (pathogenic and probiotic), yeasts and parasites. *Immunology Letters* (Vol.228, pp. 1–14). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2020.09.004>
- Bonnet, M., Lagier, J. C., Raoult, D., dan Khelaifia, S. 2020. Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes and New Infections* (Vol. 34). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>
- Bradshaw, J. L., Rafiqullah, I. M., Robinson, D. A., dan McDaniel, L. S. 2020. Transformation of nonencapsulated *Streptococcus pneumoniae* during systemic infection. *Scientific Reports*, 10 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75988-5>
- Brooks, L. R. K., dan Mias, G. I. 2018. *Streptococcus pneumoniae's* virulence and host immunity: Aging, diagnostics, and prevention. *Frontiers in Immunology* (Vol. 9, Issue JUN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01366>
- Burke, K. C. 2024. Bio 221lab: Introduction To Microbiology. <https://LibreTexts.org>.
Diakses pada tanggal 21 desember 2024.
- Calton, W. D., K. T. Harman, dan H. Williamson. 2016. *Species 2000 and IT IS Catalogue of Life*. Royal Botanic Gardens Kew. Surrey.
- Cappuccino, J. G dan Sherman, N. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: EGC.
- Cappuccino, JG. dan Sherman, N. 2014. *Manual Laboratorium Mikrobiologi Edisi Kedelapan. Alih Bahasa: Nur Miftahurrahman*. Jakarta: EGC.

- Dharmawangsa. 2019. *Koloni Bakteri*. Dharmawangsa.ac.id. <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://dharmawangsa.ac.id/public/upload/koloni%2520bakteri.pdf&ved>
- Demfarm. 2021. Tebu, Selain Manis ternyata Kaya Manfaat. <https://www.demfarm.id/tebu-selain-manis-ternyata-kaya-manfaat-ini-penjelasan>. Diakses pada tanggal 2 Januari 2025.
- Department Medical Microbiology and Infectious Disease. (n.d.). Streptococcus pneumoniae. <https://microbe-canvas.com/Bacteria/gram-positive-cocci/streptococci/catalase-negative/alpha-hemolysis/cells-in-pairs-or-chains/vancomycin-susceptible-1/streptococcus-pneumoniae.html>. Diakses pada tanggal 2 Januari 2025.
- Destriyani, Leny dkk. 2014, “PENGARUH UMUR SIMPAN AIR TEBU TERHADAP TINGKAT KEMANISAN TEBU (*Saccharum Officinarum*)”. Jurnal Teknik Pertanian Lampung Vol.3, No.2:119-126, disadur dari <https://media.neliti.com/media/publications/142387-ID-none.pdf>
- Dewi, A. P. 2011. Pemanfaatan Campuran Air Tebu dan Limbah Cair Tempe sebagai Bahan Modifikasi Media Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus casei*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan*. Bandung: Citra Aditya Bakti.
- Fauziah, P. N. 2023. *Bakteriologi Dasar dan Teknik Pemeriksaan Laboratorium*. Bandung: Widina Media Utama.
- Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar*, alih bahasa oleh Julius, E. S., Edisi ketiga,. 43. Jakarta: Binarupa Aksara
- Hairunnisa. 2019. Sulitnya Menemukan Obat Baru di Indonesia. *Majalah Farmasetika*, 4 (1) 2019, 16-21. Sumedang: Universitas Padjajaran.
- Hamdiyati, Y. 2011. *Pertumbuhan dan Pengendalian Mikroorganisme II*. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Hanifah, A. N. 2024. Efektivitas Air Limbah Air Conditioner (AC) sebagai Pelarut Media Blood Agar Plate (BAP) pada bakteri *Staphylococcus aureus*. *Karya Tulis Ilmiah*. Yogyakarta: Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta.
- Harsanto, U. 2011. *PSMI Training Modul 2011*. Bandar Lampung: Pemuka Sakti Manis Indah Plantation Departemen.
- Infolabmed. 2023. Pewarnaan Gram: Teknik dan Cara Pewarnaan untuk Membedakan Bakteri Positif dan Negatif. www.infolabmed.com. Diakses pada tanggal 22 Desember 2024.

- Jawetz, Melnick dan Adelberg. 2001. *Medical Microbiology 1st Edition*. Alih Bahasa: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg. 2016. *Medical Microbiology 27th Edition*. Alih Bahasa: Brahm U. Pendit. Jakarta: EGC.
- Jurnal Asia. 2014. Berkebun Tebu. <https://www.jurnalasia.com/bisnis/berkebun-tebu/amp/>. Diakses pada tanggal 2 Januari 2024.
- Kasiyati, M., Siti, R., Yulita, M., Emma, I., Eva, R. K., Bambang, S., Angriani, F., M. Atik, M., Muhammad, Y., dan Arif, M. 2023. *Pengetahuan Media Untuk Mahasiwa Teknologi Laboratorium Medis*. Purbalingga: Eureka Medika Aksara.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2023. *Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Rencana Aksi Nasional Penanggulangan Pneumonia Dan Diare 2023- 2030*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Khotimah, H., Anggraeni, E. W., Hasil, K., Air, P., Menggunakan, A. S., Destilasi, A., dan Setianingsih, A. 2017. Characterization Of Water Processing Using Distillation Equipment. *Jurnal Chemurgy*, 1(2).
- Krihariyani, Dwi dkk. 2016. Pola Pertumbuhan Staphylococcus aureus pada Media Agar Darah Manusia Golongan O, AB dan Darah Domba sebagai Kontrol. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*. 3 (2): 191-200.
- Krihariyani, D. 2024. The Pola Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Pada Media Blood Agar Plate (BAP) Menggunakan Darah Manusia, Darah Ayam, dan Darah Domba. *Analisis Kesehatan Sains*, 13(1). <https://doi.org/10.36568/anakes.v13i1.93>
- Kusumo, Y., Atmanto, A. A., Amin Asri, L., Kadir, N. A., Spesialis, D., dan Klinik, P. (n.d.). Media Pertumbuhan Kuman. <http://jurnalmedikahutama.com>. Diakses pada tanggal 20 desember 2024.
- Lehninger. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Liu, X., Kimmey, J. M., Matarazzo, L., de Bakker, V., Van Maele, L., Sirard, J. C., Nizet, V., dan Veening, J. W. 2021. Exploration of Bacterial Bottlenecks and Streptococcus pneumoniae Pathogenesis by CRISPRi-Seq. *Cell Host and Microbe*, 29 (1), 107- 120.e6. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.10.001>
- Marquart, M. E. 2021. Pathogenicity and virulence of Streptococcus pneumoniae: Cutting to the chase on proteases. *Virulence* (Vol. 12, Issue 1, pp. 766–787). Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1889812>

- Masruri, H. A., Syauqy, D., dan Prasetyo, B. H. 2022. Klasifikasi Kualitas Air Tebu berdasarkan PH dan Warna menggunakan Metode Jaringan Syaraf Tiruan berbasis Arduino. Vol. 6, Issue 6. <http://j-ptiik.ub.ac.id>. Diakses pada tanggal 20 Desember 2024.
- McDevitt, E., Khan, F., Scasny, A., Thompson, C. D., Eichenbaum, Z., McDaniel, L. S., dan Vidal, J. E. 2020. Hydrogen Peroxide Production by *Streptococcus pneumoniae* Results in Alpha-hemolysis by Oxidation of Oxy-hemoglobin to Met-hemoglobin. *MSphere*, 5(6). <https://doi.org/10.1128/msphere.01117-20>
- Microbe Holic. 2022. Prosedur Uji Katalase pada Bakteri. <https://www.microbeholic.com/2022/09/prosedur-uji-katalase-pada-bakteri.html?m=1>. Diakses pada tanggal 2 Januari 2025.
- Muthmainnah, M., Hatta, M., Massi, Muh. N., Hamid, F., Djaharuddin, I., Ferial, E. W., Zainuddin, A. A., dan Sari, M. H. 2020. Deteksi gen pneumolysin (ply) *Streptococcus pneumoniae* pada Sampel Klinis Usia Lanjut secara Kultur dan PCR. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 12(1), 122–126. <https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v12i1.850>
- National Institutes of Health. 2020. Taxonomy Browser (*Streptococcus pneumoniae*).
: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=info&id=1313> . Diakses pada tanggal 20 Desember 2024
- NauE, D. B., Karneli, Syailendra, A., Syafitri, I., Wulandari, S., dan Julianti, W. 2022. Buah Bit (*Beta vulgaris* L.) sebagai Alternatif Safranin pada Pewarnaan Gram. *Husada Mahakam: Jurnal Kesehatan*, 24(12), 19-24. <https://doi.org/10.35963/hmjk.v12i1.285>
- Nurhidayanti. 2019. Pemanfaatan Darah Sisa Transfusi dalam Pembuatan Media BAP untuk Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Indobiosains*. Vol. 1, Issue 2. http://univpgri-palembang.ac.id/e_jurnal/index.php/biosains. Diakses pada tanggal 20 Desember 2024.
- Paixão, L., Caldas, J., Kloosterman, T. G., Kuipers, O. P., Vinga, S., dan Neves, A. R. 2015. Transcriptional and metabolic effects of glucose on *Streptococcus pneumoniae* sugar metabolism. *Frontiers in Microbiology*, 6(OCT). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01041>
- Permadi, L.M dan E. Zulaika. 2016. Isolasi Bakteri Resisten Antibiotik dari Kawasan Mangrove Wonorejo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. Vol. 5 (2): 71-73.

- Rini, C. S. dan Rohmah, J. 2020. *Buku Ajar Mata Kuliah Bakteriologi Dasar*. Sidoarjo: Umsida Press.
- Russell, F. M., Biribo, S. S. N., Selvaraj, G., Oppedisano, F., Warren, S., Seduadua, A., Mulholland, E. K., dan Carapetis, J. R. 2016. As a bacterial culture medium, citrated sheep blood agar is a practical alternative to citrated human blood agar in laboratories of developing countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(9), 3346–3351. <https://doi.org/10.1128/JCM.02631-05>
- Sadowy, E., dan Hryniewicz, W. (n.d.). *Identification of Streptococcus pneumoniae and other Mitis streptococci: importance of molecular methods*. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03991-9/Published>
- Safari, D., Yayah, W., Wisnu, T., Miftahuddin, M., K., Korrie, S., Wisifa, T., P., dan Hanifah, F.M. 2023. *Teknik Isolasi dan Identifikasi Streptococcus pneumoniae*. Jakarta: UI Publishing
- Safitri, R. D. 2021. Perbedaan Hasil Pertumbuhan Bakteri Enterococcus faecalis pada Media Agar Darah Menggunakan Pelarut Air Kelapa dan Akuades. *Skripsi*. Yogyakarta: Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta.
- Sapkota, A. 2022. Agar Darah – Komposisi, Prinsip, Persiapan, Kegunaan dan Hemolisis. Catatan Mikroba. <https://microbenotes.com/blood-agar-composition-principle-preparation-and-uses/>. Diakses pada tanggal 22 desember 2024.
- Sari, M., Latief, N., dan Nassrum Massi. 2019. Isolasi Dan Identifikasi Gen Pneumococcal Surface Adhesin A (PSAA) Sebagai Faktor Virulensi Streptococcus Pneumoniae Isolation And Identificatin Of Pneumococcal Surface Adhesin A (PSAA) Gene As A Factor Virulensi Of Streptococcus pneumoniae. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 5(1), 27–33. <http://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>. Diakses pada tanggal 20 Desember 2024.
- SIG Laboratory. 2024. Kenali Karakter Media Sheep Blood Agar Produksi SIG Laboratory. <https://siglaboratory.com/id/karakter-media-sheep-blood-agar-produksi-sig/>. Diakses pada tanggal 2 Januari 2025.
- Sugiyono. 2017. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Alfabeta
- Sugiyono. 2015. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R & D*. Bandung: Alfabeta
- Sulistiyanto, T.Q., Siti, M. S., dan Ade, S. 2021. Pemahaman dan Perspektif Mahasiswa Mengenai Manfaat Air Tebu (*Saccharum officinarum*) dalam

- Prospek Kesehatan Tabitha Qotrunnada Sulistiyanto, Siti Merlianawati Sinaga, Ade Suryanda. *Jurnal Pro-Life* (Vol. 8, Issue 3). <https://ejournal.uki.ac.id/index.php/prolife>. Diakses pada tanggal 20 Desember 2023.
- Tarigan, B. Y. Dan J. N. Sinulingga. 2019. Laporan Praktek Kerja Lapangan di Pabrik Gula Sei Semayang PTPN II Sumatera Utara. Medan: Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Tenny, O., Egwuatu. 2014. Effect of Blood Agar from Different Animal Blood on Growth Rates and Morphology of Common Pathogenic Bacteria. *Advances in Microbiology*, 4, 1237-1241 Published Online December 2014 in SciRes. <http://www.scirp.org/journal/aim>
- Tim Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publishing
- Titan Biotech. 2022. Customized SBA Plates for Diagnosing Streptococcus Pneumoniae. <https://www.tmmedia.in/customized-sba-plates-for-diagnosing-streptococcus-pneumoniae/>. Diakses pada tanggal 2 Januari 2025.
- Turista, D. D. R., dan Puspitasari, E. 2019. The Growth of Staphylococcus aureus in the blood agar plate media of sheep blood and human blood groups A, B, AB, and O. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 8(1), 1–7. <https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v8i1.155>
- Vollmer, W., Massidda, O., dan Tomasz, A. 2019. The Cell Wall of Streptococcus pneumoniae. *Microbiology Spectrum*, 7(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0018-2018>
- Waluyo, L. 2016. *Mikrobiologi Umum Edisi 5*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press
- Weiser, J. N., Ferreira, D. M., dan Paton, J. C. 2018. Streptococcus pneumoniae: Transmission, colonization and invasion. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 16, Issue 6, pp. 355–367). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0001-8>
- WHO. 2021. *Pneumonia*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia>
- Widyastuti, P., Nurul Utami, H., dan Fardi Anugrah, M. 2023. *LMJ 2(2) (2023) Lombok Medical Journal Meningitis Bakterial: Epidemiologi, Patofisiologi, dan Penatalaksanaan*. <https://doi.org/10.29303/lmj.v2i2.2962>
- Yani, J. A., Pos, T., dan Kartasura, I.-P. (n.d.). *Universitas Muhammadiyah Surakarta*