

Pemanfaatan Ikan Penja (*Awaous melanocephalus*) Sebagai Media Alternatif Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Utilization Of Penja Fish (*Awaous melanocephalus*) As An Alternative Medium Against The Growth Of *Staphylococcus aureus* Bacteria

Rafika, Ridho Pratama, Syahida Djasang, Mursalim, Zhafira Salsabila Andini
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar

*rafikaudinramli@gmail.com: 082345553522

ABSTRACT

*Penja fish (*Awaous melanocephalus*) contains quite high protein and salt. The result of the examination of the protein level of penja fish was 81%. MSA media is a selective medium containing protein and salt to grow *Staphylococcus aureus* bacteria. This study aims to determine the ability of penja fish to be used as a basic ingredient in making alternative media to replace MSA in growing *Staphylococcus aureus* bacteria, to see the influence of variations in the concentration of alternative media on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria, and to determine the most effective concentration to use. This study is experimental using penja fish samples. This experiment was carried out using the bacterial culture method. In this study, data analysis was carried out using the One-Way Anova Test. The results of the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in alternative media used variable concentrations, the concentrations used were 2%, 3%, 5%, and 6% using MSA media as a positive control. During the incubation process of bacterial growth on the alternative media of penja fish with concentrations of 5% and 6%, showing large and stacked colonies, the color change of the medium also occurred faster than that of alternative media with concentrations of 2% and 3%. With the final result, penja fish can be used as one of the natural materials that can be used to make alternative media for bacterial growth. It can be concluded that the most effective alternative media for concentration of penja fish used is 3% concentration, because the colony is almost similar to the colony in the MSA control medium..*

Keywords : *Alternative Media, Penja Fish, Mannitol Salt Agar Media, Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Ikan penja (*Awaous melanocephalus*) mengandung protein dan garam yang cukup tinggi. Hasil pemeriksaan kadar protein ikan penja adalah sebesar 81%. Media MSA merupakan media selektif yang mengandung protein dan garam untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ikan penja dapat digunakan sebagai bahan dasar dalam pembuatan media alternatif pengganti MSA dalam menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*, melihat pengaruh variasi konsentrasi media alternatif terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan mengetahui konsentrasi yang paling efektif untuk digunakan. Penelitian ini bersifat eksperimen menggunakan sampel ikan penja. Percobaan ini dilakukan dengan metode kultur bakteri. Pada penelitian ini dilakukan analisa data menggunakan Uji *One-Way Anova*. Hasil pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif ikan penja menggunakan konsentrasi yang bervariasi, konsentrasi yang digunakan yaitu 2%, 3%, 5%, dan 6% dengan menggunakan media MSA sebagai kontrol positif. Selama proses inkubasi pertumbuhan bakteri pada media alternatif ikan penja dengan konsentrasi 5% dan 6% menunjukkan koloni yang besar dan bertumpuk, perubahan warna media juga terjadi lebih cepat dibandingkan media alternatif ikan penja dengan konsentrasi 2% dan 3%. Dengan hasil akhir bahwa ikan penja dapat dijadikan sebagai salah satu bahan alam yang dapat digunakan untuk pembuatan media alternatif bagi pertumbuhan bakteri. Dapat disimpulkan media alternatif ikan penja konsentrasi yang paling efektif digunakan yaitu konsentrasi 3%, karena koloninya hampir mirip dengan koloni pada media kontrol MSA.

Kata kunci : *Media Alternatif, Ikan Penja, Media Mannitol Salt Agar, Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Media berfungsi sebagai *gold standard* dalam mengisolasi mikroorganisme yang berasal dari suatu penyakit infeksi. Media dapat digunakan sebagai penegak diagnosa, bisa juga untuk mengisolasi, melihat sifat fisiologis, serta perhitungan jumlah mikroorganisme (Varghese and Joy, 2016). Untuk mengisolasi dan menumbuhkan suatu mikroorganisme memerlukan media pertumbuhan yang mengandung campuran bahan yang didapat menunjang pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme (Oktafiani & Warella, 2023).

Kandungan penyusun dari media untuk mengisolasi dan menumbuhkan mikroorganisme yaitu terdiri dari unsur nitrogen, karbon, vitamin, air dan mineral. Media untuk mengembangbiakkan dan mengisolasi mikroba terdiri kandungan protein, pepton, karbohidrat, dan agar (Khan, 2019). Nutrisi yang kompleks sangat dibutuhkan mikroorganisme serta memiliki kondisi lingkungan yang sesuai sehingga pertumbuhannya maksimal (Novitasari, 2019).

Setiap mikroba memiliki kebutuhan yang berbeda. Untuk pertumbuhan bakteri bervariasi tergantung jenis bakteri yang membutuhkan nutrisi khusus untuk pertumbuhannya (Karen C. carroll, 2017). Media selektif merupakan media yang dapat menumbuhkan jenis bakteri tertentu untuk hidup dan tumbuh serta menghambat pertumbuhan bakteri lain. Media selektif mengandung beberapa bahan khusus seperti dengan menambahkan garam yang dapat mempengaruhi metabolisme atau sistem enzim bakteri sistem enzim bakteri. Contoh dari media selektif bakteri adalah *Mannitol Salt Agar (MSA)* yang berfungsi untuk mengisolasi genus *Staphylococcus* (Atmanto, Asri, 2022).

Media *Mannitol Salt Agar (MSA)* merupakan media selektif untuk mengisolasi *Staphylococcus aureus* dari sampel klinis maupun non-klinis. Direkomendasikan untuk mengisolasi dan menghitung *Staphylococcus* koagulase positif dalam susu, makanan, dan menghambat pertumbuhan bakteri lain (Sagar, 2022). Media MSA digunakan sebagai media selektif untuk mengisolasi *Staphylococcus*, dikarenakan bakteri tersebut dapat mentoleransi kadar garam yang tinggi. Kebanyakan bakteri tidak dapat bertahan pada kondisi garam yang tinggi (hipertonik) tetapi genus *Staphylococcus* dapat bertahan pada lingkungan dengan konsentrasi garam cukup tinggi (Novitasari, 2019). MSA juga mengandung pepton, ekstrak daging sapi, nilai pH 7,4, *phenol red*, manitol, serta agar. Pepton yang berfungsi sebagai sumber nitrogen bagi pertumbuhan mikroorganisme bersama dengan ekstrak daging sapi, NaCl berperan sebagai bahan penyeleksi bakteri yang bersifat non halofilik. Untuk sumber karbon berasal dari manitol, indikator perubahan nilai pH media dilihat dengan menambahkan *phenol red*, dan Media memadat dengan tambahan agar (Dalynn Biologicals, 2014).

Media MSA memiliki bahan yang berbentuk instan atau rehidrat dan harganya yang tidak murah. MSA juga lebih banyak diperoleh dari perusahaan asing daripada perusahaan lokal. Melimpahnya sumber daya alam di Indonesia bisa dijadikan bahan pembuatan media tumbuh mikroorganisme, contohnya sumber alam yang berasal dari protein nabati dan hewani yang dapat menggantikan ekstrak daging dan pepton yang terkandung pada MSA (Suhartati, 2018). Mikroorganisme membutuhkan bahan yang kandungan nutrisi seperti kandungan protein dan karbohidrat yang cukup untuk memenuhi pertumbuhannya (Susanti, 2022). Indonesia kaya akan alam yang melimpah, yang dapat dijadikan bahan-bahan alternatif untuk membuat media bakteri. Contohnya bahan-bahan yang murah dan mudah didapatkan seperti bahan alam dari laut yang dapat menggantikan bahan sumber protein dalam media MSA. Ikan merupakan sumber protein yang tinggi (Novitasari, Rohmi and Inayati, 2019).

Pepton ikan yang terkandung dalam media pertumbuhan bakteri dapat meningkatkan nilai *optical density* bakteri dibandingkan dengan pertumbuhan bakteri dengan menggunakan media yang mengandung pepton komersial (Novitasari, Rohmi and Inayati, 2019). Pepton merupakan bahan terpenting yang harus terkandung dalam media yang digunakan sebagai sumber nitrogen (Lastian *et al.*, 2019). Salah satu sumber bahan alternatif dari laut tersebut dapat diperoleh dari ikan. Ikan penja mengandung protein cukup tinggi. Protein pada Ikan penja yang sangat tinggi akan berpeluang menjadi bahan pengganti sumber protein pada media pertumbuhan bakteri. Mudah diperoleh dan harganya juga lumayan murah. Ikan penja dapat dibedakan dari segi warna ada ikan yang berwarna putih dan hitam (Fajriana, 2020). Hasil penelitian mengenai komposisi kimia ikan penja diperoleh hasil kadar protein

ikan Penja adalah 64% (Ida, 2022). Dari penelitian lain diperoleh kadar protein pada ikan Penja 61,66% dan ikan penja juga mengandung kadar garam yang tinggi sekitar 17% (Fajriana, 2020).

Dengan kadar protein dan garam yang dikandung oleh ikan penja bisa menjadi peluang untuk dijadikan bahan dasar pembuatan media alternatif pengganti MSA. Penelitian sebelumnya oleh Lastian *et al.*, (2019) membuktikan bahwa ikan nila bisa untuk sumber protein alternatif yang dibutuhkan bakteri *Staphylococcus aureus* untuk tumbuh. Berdasarkan penjelasan tersebut dibutuhkan penelitian mengenai manfaat ikan penja yang dapat dipergunakan untuk pengganti protein pepton komersial dalam pembuatan media alternatif pengganti MSA untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *eksperimen* dengan memanfaatkan ikan penja sebagai media alternatif pengganti MSA untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengambilan sampel ikan penja dilakukan di Pasar Tradisional Kabupaten Mamuju, untuk proses pembuatan tepung ikan penja dilakukan di Laboratorium Pangan dan Pengeringan Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Makassar, dan pembuatan media alternatif ikan penja dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai April 2024.

Bahan dan alat

Pada penelitian ini akan digunakan bahan-babahn seperti tepung ikan penja dengan variasi konsnetrasi 2%, 3%, 5%, dan 6%, media MSA, manitol, *phenol red*, agar, minyak imersi, bahan pewarnaan gram, reagen H₂O₂ 3%, plasma, bakteri murni *Staphylococcus aureus*, dan aquadest. Alat-alat dalam pembuatan tepung ikan penja yang digunakan yaitu baskom, timbangan, kompor, tirisan, penjepit panci kukusan, loyang, sendok, spatula, grinder dan ayakan 80 mesh. Untuk proses pembuatan media dan inokulasi bakteri ke media alat digunakan adalah *hot plate*, autoklaf, erlenmeyer, *beaker glass*, cawan petri, aluminium foil, kapas, ose, neraca digital, lampu spiritus atau bunsen, gelas ukur, sendok tanduk, batang pengaduk, kertas pH, *objek glass*, matt pipet dan mikroskop.

Langkah-Langkah Penelitian

a. Pembuatan tepung biakan penja

Ikan penja dicuci dengan air dan direndam semalaman, lalu dikukus selama 30 menit sambil dibungkus aluminium foil (sebaiknya dilakukan teknik perebusan dikarenakan mutu tepung ikan lebih baik dibanding perlakuan lainnya. Namun ikan penja berukuran sangat kecil maka digunakan metode pengukusan) setelah kukusan ditiriskan, lalu dihaluskan, dan dimasukkan dalam oven pada suhu 65°C untuk mengeringkan butiran-butiran tepung. Setelah itu dihaluskan kembali menggunakan blender, dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh agar menghasilkan butiran sangat halus (Jayadi and Rahman, 2020).

b. Pembuatan media alternatif ikan penja

Tepung ikan penja ditimbang masing-masing 2 gram, 3 gram, 5 gram, 6 gram, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, kemudian dimasukkan air suling 100 mL. Lalu dilarutkan dan terus diaduk sampai homogen, setelah itu disaring. Masing-masing variasi konsentrasi ditambahkan 1 gram mannitol, phenol red sebanyak 0,0025 gram, bacteriological agar 1,5 gram. Beri label masing-masing erlenmeyer sesuai konsentrasinya. Media dipanaskan menggunakan hot plate sampai serbuk media larut. Selanjutnya pH media diperiksa menggunakan kertas pH, apabila pH media sekitar 7,2 – 7,6 ditutup mulut erlenmeyer menggunakan kapas lalu dibungkus koran, media lalu disterilkan dengan alat autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Media dituang ke dalam cawan petri steril, setelah itu dibiarkan dingin hingga memadat.

c. Pembuatan media MSA

Melarutkan 7,77 gram media MSA dengan 100 mL aquadest. Media dipanaskan diatas

hot plate sambil diaduk hingga serbuk media larut sempurna. Periksa pH media dengan kertas pH indikator, jika pH sudah pada rentang 7,2 – 7,6 lubang erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan aluminium foil, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah steril dituang ke dalam cawan petri steril, dibiarkan hingga dingin dan memadat.

d. Inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* ke media

Menyiapkan peralatan dan bahan yang telah disterilkan. Lalu membuat standar Mc Farland 0,5 sebanyak 10 mL sebagai pembanding dengan suspensi bakteri. Setelah itu dibuat suspensi dari bakteri *Staphylococcus aureus* lalu dibandingkan dengan standar Mc Farland. Lalu suspensi yang telah dibuat akan diencerkan untuk menentukan koloni pada media dapat dihitung dengan baik (30-300 koloni). Disiapkan media alternatif dan media MSA yang akan diinokulasi dengan bakteri. Api spiritus atau bunsen dinyalakan, setelah itu meneteskan suspensi bakteri yang telah diencerkan tadi dengan mikropipet sebanyak 0,1 mL pada bagian tengah media ikan penja dan media kontrol MSA yang sudah memadat. Lalu suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* pada media diratakan sampai semua suspensi bakteri merata tersebar di permukaan media. Semua tahap diulang pada semua konsentrasi media alternatif dan media MSA sebagai kontrol. Setelah itu inkubasi media dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.

e. Perhitungan koloni bakteri

Masing-masing media tepung ikan penja dan media MSA yang sudah diinokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* serta diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam diamati pertumbuhan koloninya, kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada media alternatif ikan penja dan media kontrol MSA. Pengamatan pertumbuhan dan perhitungan jumlah koloni pada media alternatif ikan penja dengan variasi 2%, 3%, 5%, dan 6%, serta pada media kontrol media MSA yang telah diinkubasi selama 24 jam.

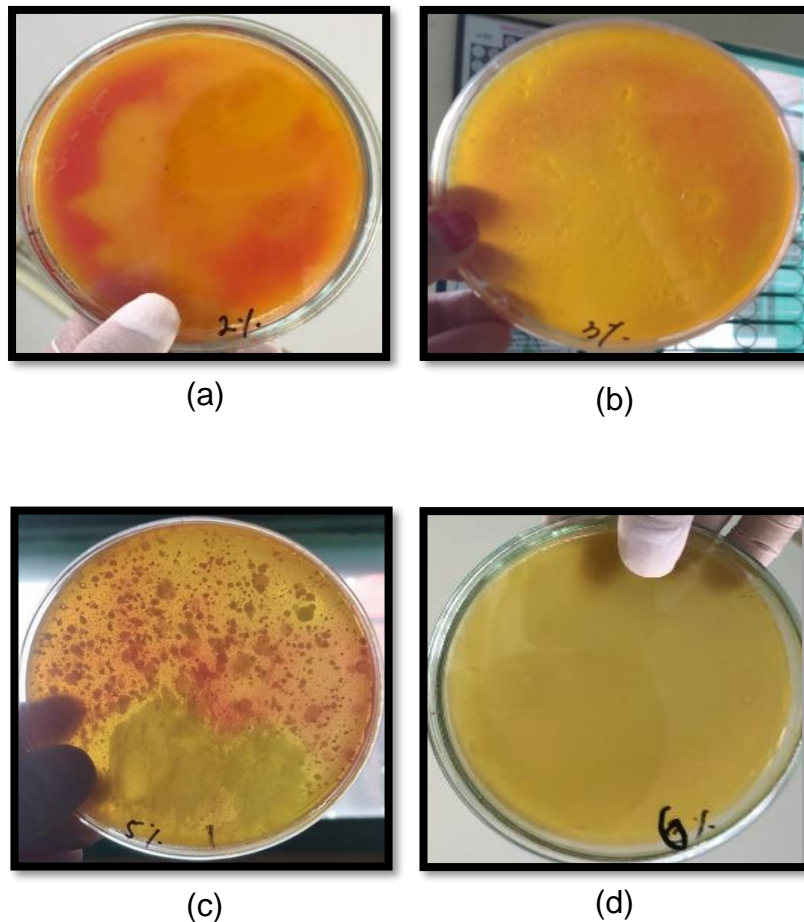
Pengolahan dan analisis data

Analisa data yang akan digunakan pada penelitian ini adalah uji *One-Way Anova* untuk melihat perbedaan antara beberapa kelompok (digunakan pada penelitian yang memiliki lebih dari dua kelompok). Uji normalitas untuk mengetahui data distribusi secara normal ($p > 0,05$) digunakan rumus *Shapiro-Wilk*. Uji untuk melihat konsentrasi media yang efektif adalah Uji *Post Hoc Duncan*.

HASIL

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar pada tanggal Maret – April 2024. Dalam penelitian ini ikan penja sebagai bahan pembuatan media alternatif pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan media dari bahan alami seperti ikan penja yang kaya akan protein dapat dijadikan media alternatif yang dapat menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga dapat membantu menumbuhkan bakteri.

Penelitian ini dilakukan dengan *true eksperimen* dengan memanfaatkan ikan penja menjadi bahan utama pembuatan media alternatif pengganti MSA untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Untuk melihat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media berbahan dasar alam ikan penja tahapan penelitian meliputi pembuatan tepung ikan penja, lalu pembuatan media alternatif berbahan dasar ikan penja dengan variasi konsentrasi, pembuatan media kontrol MSA, pembuatan suspensi bakteri yang telah distandarkan kekeruhannya dengan *Mac Farland* lalu diencerkan sampai pengenceran kelima, lalu menginokulasi suspensi bakteri pengenceran kelima ke media alternatif ikan penja serta media kontrol MSA, dan terakhir perhitungan koloni bakteri pada media alternatif ikan penja dan media kontrol MSA setelah diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah itu, diamati secara makroskopik. Hasil penelitian dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut:



Gambar 1. (a) konsentrasi media 2%, (b) konsentrasi media 3%, (c) konsentrasi media 5%, dan (d) konsentrasi media 6%

Pada gambar 1 menunjukkan bahwa perlakuan pengamatan pada media yang telah diinokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada media MSA sebagai kontrol dan media alternatif berbahan ikan penja terdapat pertumbuhan. Namun, pertumbuhan bakteri pada media alternatif ikan penja tidak menunjukkan pertumbuhan koloni yang baik, pertumbuhan koloni bakteri yang terlalu padat dan bertumbuh menyebabkan koloni sulit untuk dihitung, ada juga koloni bakteri tidak nampak seperti bentuk koloni tetapi terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning yang menandakan terdapat sesuatu memfermentasi manitol yang terkandung pada media. Untuk memastikannya peneliti melakukan pewarnaan gram dan didapatkan bakteri gram positif yang bergerombol. Oleh sebab itu, peneliti melakukan pengulangan percobaan inokulasi bakteri dengan inkubasi dengan metode inokulasi suspensi bakteri yang berbeda dari percobaan yang pertama. Dari percobaan kedua didapatkan hasil penelitian yang dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1 Hasil pengamatan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media MSA secara makroskopis dan mikroskopis

| No | Media | | Makroskopis | | | Mikroskopis |
|----|-------|---|-------------|----------------|---------|--|
| | | | Warna | Bentuk | Elevasi | |
| 1 | 2% | S | K | Bulat Kecil | C | Gram positif (kokus bergerombol) |

| | | | | | | |
|----------|---------|---|-----------------------------------|--|----|----------------------------------|
| | | D | K | Bulat kecil | C | Gram positif (kokus bergerombol) |
| | | T | K | Bulat Kecil, dengan ada beberapa koloni besar | TC | Gram positif (kokus bergerombol) |
| 2 | 3% | S | K | Bulat kecil, ada koloni yang menyatu | C | Gram positif (kokus bergerombol) |
| | | D | K (terdapat sedikit daerah merah) | Bulat Kecil | C | Gram positif (kokus bergerombol) |
| | | T | K | Bulat kecil | C | Gram positif (kokus bergerombol) |
| 3 | 5% | S | K | Bulat Kecil | C | Gram positif (kokus bergerombol) |
| | | D | K | Bulat | C | Gram positif (kokus bergerombol) |
| | | T | K | Bulat Ukuran beragam, dengan beberapa koloni besar | TC | Gram positif (kokus bergerombol) |
| 4 | 6% | S | K | Bulat | C | Gram positif (kokus bergerombol) |
| | | D | K | Bulat kecil, ada koloni besar yang menyatu | C | Gram positif (kokus bergerombol) |
| | | T | K (Terdapat sedikit daerah merah) | Bulat kecil, ada koloni besar yang menyatu | C | Gram positif (kokus bergerombol) |
| 5 | Kontrol | | K | Bulat kecil rata | C | Gram positif (kokus bergerombol) |

*Ket : S= Simplo, D= Duplo, dan T= Triplo
Warna (K = Kuning)
Elevasi (C = Cembung dan TC = Tidak Cembung)

Pada tabel 1 menunjukkan bahwa dilakukan hasil pengamatan pada media yang telah dinokulasi ulang dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif ikan penja dan media kontrol MSA yang telah diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pada pengamatan secara makroskopis pada media

alternatif ikan penja simplo, duplo, dan triplo terdapat pertumbuhan koloni bakteri berukuran kecil, bulat tepi rata, berwarna kuning, elevasi cembung tetapi ada beberapa konsentrasi yang elevasi koloni tidak cembung, terdapat beberapa koloni yang bergabung menjadi satu yang merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlahnya diragukan, maka dihitung sebagai satu koloni, dan juga terdapat koloni yang menjadi satu deretan atau rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung satu koloni.

Pengamatan secara mikroskopis didapatkan bakteri gram positif kokus bergerombol, yang menandakan bahwa bakteri yang tumbuh adalah bakteri *Staphylococcus*. Untuk memastikan spesies bakteri yang tumbuh pada media alternatif ikan penja merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* maka dilakukan uji penegasan katalase dan koagulase. Uji katalase dilakukan dengan cara meneteskan reagen peroksida (H_2O_2) pada kaca objek kemudian menambahkan satu ose koloni bakteri dari media alternatif dan dihomogenkan. Dan untuk uji koagulase ini menggunakan metode slide dengan cara meneteskan plasma sitrat pada satu ose koloni bakteri dari media alternatif. Hasil uji penegasan dapat dilihat pada tabel 2 :

Tabel 2. Hasil Uji Penegasan Katalase dan Koagulase

| No | Konsentrasi Media | Uji Penegasan | |
|----|-------------------|---------------|---------------|
| | | Uji Katalase | Uji Koagulase |
| 1 | 2% | (+) | (+) |
| 2 | 3% | (+) | (+) |
| 3 | 5% | (+) | (+) |
| 4 | 6% | (+) | (+) |
| 5 | Kontrol | (+) | (+) |

*Ket : (+) = Positif

Dari hasil uji katalase pada koloni media alternatif ikan penja dan media MSA kontrol menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya buih setelah dihomogenkan dengan larutan peroksida dan menandakan bahwa koloni bakteri pada media alternatif ikan penja merupakan bakteri *Staphylococcus*. Untuk hasil dari uji koagulase pada koloni media alternatif ikan penja dan media MSA kontrol juga menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya gumpalan atau aglutinasi setelah dihomogenkan dengan plasma sitrat dan menandakan bahwa koloni bakteri dari media alternatif mampu menghasilkan enzim koagulase. Dengan ini dapat dipastikan bahwa bakteri yang tumbuh pada media alternatif ikan penja dan media MSA kontrol adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

Setelah dilakukan pengamatan secara makroskopis, mikroskopis dan uji penegasan, selanjutnya dilakukan perhitungan koloni pada media kontrol MSA dan media alternatif ikan penja setiap konsentrasi baik simplo, duplo, dan triplo. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 3 :

Tabel 3. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif dan media kontrol MSA.

| No | Konsentrasi Media (%) | Jumlah Koloni / Replikas | | | Σ | Rata-rata ($\times 10^5$ CFU/mL) |
|----|-----------------------|--------------------------|-----|-----|----------|-----------------------------------|
| | | I | II | III | | |
| 1 | 2 | 138 | 134 | 141 | 413 | 137,66 |
| 2 | 3 | 154 | 158 | 155 | 467 | 155,67 |
| 3 | 5 | 142 | 149 | 158 | 446 | 148,67 |
| 4 | 6 | 145 | 147 | 152 | 444 | 148 |
| 5 | kontrol | 167 | 164 | 162 | 493 | 164,33 |

Berdasarkan tabel di atas menunjukkan bahwa setiap penambahan variasi konsentrasi dengan media kontrol MSA menunjukkan pertumbuhan koloni yang berbeda. Dimana pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* lebih banyak di media kontrol MSA yaitu rata-rata (*mean*) jumlah koloni 164,33. Sedangkan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditanam pada media alternatif ikan penja dengan konsentrasi 5% dan 6% mengalami pertumbuhan yang lebih rendah dengan media alternatif ikan penja konsentrasi 3%, dikarenakan pada konsentrasi 5% dan 6% banyak koloni

besar yang menyatu sehingga saat perhitungan koloni akan dihitung sebagai satu koloni saja. Jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* terbanyak pada media alternatif ikan penja konsentrasi 3% yaitu $155,67 \times 10^5$ CFU/mL dan pada media MSA jumlah koloninya yaitu $164,33 \times 10^5$ CFU/mL. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan kandungan nutrisi pada setiap konsentrasi media yang diuji mempengaruhi hasil pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif ikan penja, pada konsentrasi rendah seperti 2% dan 3% koloni berukuran kecil-kecil sedangkan pada konsentrasi tinggi seperti 5% dan 6% koloni bakteri *Staphylococcus aureus* berukuran besar-besar dan bertumpuk menjadi satu koloni sehingga dihitung sebagai satu koloni. Dalam penelitian ini telah dibuktikan bahwa ikan penja dapat digunakan sebagai bahan alternatif media MSA untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Analisis data pada penelitian ini adalah uji *One Way Anova*. Sebelum dilakukan perhitungan menggunakan *One Way Anova*, perlu dipenuhi salah satu syarat wajib yaitu uji normalitas pada data yang ada. Tujuan dilakukannya uji normalitas adalah untuk mengetahui apakah suatu data distribusinya normal atau tidak.

Uji Normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk*. Data dikatakan memiliki nilai distribusi normal dengan syarat jika data nilainya di atas 0,05. Pada hasil uji normalitas menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan memiliki data yang normal. Kelompok perlakuan pada kontrol positif memiliki $p = 0.780$, kelompok p1 (konsentrasi 2%) memiliki $p = 0.843$, kelompok p2 (konsentrasi 3%) $p = 0.463$, kelompok p3 (konsentrasi 5%) memiliki $p = 0.862$, dan kelompok p4 (konsentrasi 6%) memiliki $p = 0.573$. Semua kelompok perlakuan dikatakan memiliki data yang normal karena signifikannya $p > 0.05$. Semua data pada uji homogenitas varians nilai signifikansi atau probabilitas menunjukkan hasil $p > 0.05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data berasal dari populasi-populasi yang mempunyai varians sama.

Analisis data menunjukkan hasil yang normal dan homogen yang menandakan bahwa semua syarat untuk uji Anova telah dipenuhi. Hasil perhitungan jumlah koloni pada uji Anova menunjukkan nilai signifikansi 0,000 menandakan bahwa $p < 0.05$ yang artinya H1 dapat diterima dan H0 ditolak. Yaitu dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan anatar pertumbuhan jamur pada media alternatif ikan penja dengan variasi konsentrasi dalam menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Uji statistik dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* Duncan yang digunakan untuk mengetahui konsentrasi media alternatif ikan penja yang terbaik untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil dari *Post Hoc Test* duncan menunjukkan media alternatif ikan penja yang memiliki jumlah presentase pertumbuhan yang sama adalah konsentrasi 3%, 5% dan 6% karena berada dikolom yang sama, sedangkan media alternatif ikan penja konsentrasi 2% memiliki perbedaan yang signifikan terhadap ketiga konsentrasi tersebut.

PEMBAHASAN

Media Mannitol Salt Agar (MSA) merupakan media selektif yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Media ini termasuk media selektif dikarenakan mengandung garam yang cukup tinggi sekitar 7.5-10% yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri non-halofilik. Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri halofilik yang merupakan bakteri tahan garam dan dapat tumbuh dengan baik pada media yang mengandung 7.5% NaCl, seperti pada media MSA. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat bertahan pada kadar garam kurang dari 15% (Amalia, 2016).

Ikan penja mengandung garam tinggi, hasil pengujian ikan penja menunjukkan kadar garam berkisar antara 17.12-23.29% (Ika, 2021). Kadar garam tersebut terlalu tinggi untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga peneliti melakukan perendaman ikan penja sebelum proses penepungan selama kurang lebih semalaman dan dikukus selama 20 menit. Namun, saat tepung ikan penja diukur kadar garamnya di BBLK kadar garam pada tepung ikan penja hanya menjadi 0.3%, sehingga saat proses pembuatan media alternatif ikan penja peneliti menambahkan NaCl sekitar 7% yaitu 7 gram dalam 100 ml. Tujuan penambahan NaCl ini untuk menyamakan kandungan media alternatif ikan penja dengan media kontrol MSA dan menghambat atau mencegah kontaminasi dari bakteri lain.

Pada gambar 1 menunjukkan hasil pertumbuhan koloni pada media alternatif ikan penja yang kurang baik. Hal tersebut dikarenakan proses penyebaran suspensi bakteri kurang baik, koloni terlihat bertumpuk dan sangat banyak, sehingga koloni sulit untuk dihitung. Oleh karena itu, peneliti mencoba melakukan percobaan ulang pada proses inokulasi suspensi bakteri ke media alternatif ikan penja dengan

mengubah cara penyebaran bakteri. Lalu media alternatif ikan penja yang telah diinokulasi suspensi bakteri diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Proses penginokulasian jika dilakukan dengan tidak benar maka akan terbentuk spreader yaitu pertumbuhan yang bakteri yang terlalu banyak sehingga morfologi koloni bakteri terlihat bertumpuk-tumpuk. Spreader terjadi karena bakteri kurang diencerkan sehingga masih terlalu banyak bakteri yang tumbuh. Kekurangan menggunakan metode spread ini adalah mudah terjadi kontaminasi apabila dalam pengerjaannya kurang aseptis dan jika perataan kurang merata maka koloni yang terbentuk akan terkumpul disuatu tempat saja (Kezia, 2016).

Tabel 1 menunjukkan hasil pertumbuhan koloni bakteri percobaan kedua yang diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis didapatkan perubahan warna yang terjadi pada media alternatif dari sebelumnya merah menjadi warna kuning. Perubahan warna pada media disebabkan oleh suatu mikroba yang memfermentasi manitol. *Staphylococcus aureus* pada media MSA akan terlihat pertumbuhan koloni dengan dikelilingi zona kuning keemasan karena kemampuan bakteri tersebut dalam memfermentasi manitol. Jika bakteri yang tumbuh tidak mampu memfermentasi manitol, maka tidak akan timbul zona. Pigmen kuning ini yang dapat membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan zona putih (Hayati *et al.*, 2019).

Ukuran koloni yang tampak pada media alternatif ikan penja sangat bervariasi. Semakin tinggi konsentrasi media alternatif ikan penja, maka semakin besar koloni yang terbentuk. Media alternatif ikan penja dengan konsentrasi 2% dan 3% memiliki ukuran koloni kecil hampir mendekati mirip dengan koloni pada media kontrol MSA. Sedangkan media alternatif ikan penja konsentrasi 5% dan 6% memiliki ukuran koloni yang besar-besar dan bertumpuk. Sejalan dengan pernyataan (Suhartati, 2018) yang menyatakan bahwa perbedaan tersebut dipengaruhi oleh kandungan nutrisi pada media. Kandungan nutrisi pada ikan penja sangat melimpah mulai dari protein, karbohidrat, mineral, vitamin, dan lain sebagainya (Ida, 2022). Selain itu, hasil pemeriksaan kadar protein pada tepung ikan penja yang diperiksa di BBLK Makassar menunjukkan bahwa ikan penja mengandung sekitar 81% protein, sedangkan pepton yang terkandung pada media MSA hanya 10 gram. Oleh karena itu, kandungan protein ikan penja yang sangat tinggi mempengaruhi ukuran koloni bakteri.

Hasil dari pengamatan secara makroskopis menunjukkan ciri yang sama dengan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan dilanjutkan dengan pengamatan secara mikroskopis dengan dilakukan pewarnaan gram dan diamati di bawah mikroskop. Dari hasil pengamatan mikroskopis membuktikan bahwa bakteri yang tumbuh merupakan bakteri gram positif bergerombol seperti ciri bakteri *Staphylococcus*. Pengamatan mikroskopis dari semua media alternatif ikan penja dan MSA kontrol MSA didapatkan bakteri bersifat gram positif ditandai dengan bakteri berwarna ungu dan bergerombol seperti anggur. Warna sel terlihat ungu menandakan bahwa sel ini mampu mempertahankan kristal violet di dalam sel sebagai pewarna primer (Fuad abdilah, 2021).

Penentuan spesies bakteri tidak hanya pada morfologi atau biakan biasa, namun memerlukan sifat biokimia dari suatu bakteri. Salah satu uji biokimia yang dapat menentukan spesies *Staphylococcus sp.* adalah uji katalase dan koagulase. Uji katalase ini digunakan untuk membedakan bakteri *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.* Bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan hasil uji katalase positif karena bakteri tersebut menghasilkan enzim katalase atau peroksidase yang dianggap sebagai penentu virulens. Semua konsentrasi media alternatif ikan penja menunjukkan hasil katalase positif ditandai dengan terbentuknya gelembung gas (Dezfulian, 2015). Uji koagulase pada semua media alternatif ikan penja menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terdapat gumpalan atau aglutinasi pada kaca objek setelah penambahan plasma sitrat. Uji koagulase digunakan untuk diferensiasi *Staphylococcus aureus* dari spesies *Staphylococcus* lainnya. Bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan hasil koagulase positif, sedangkan *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus intermedius*, dan *Staphylococcus* lainnya memberikan hasil uji koagulase negatif. *Staphylococcus aureus* mempunyai faktor virulens berupa koagulase yang terikat di dinding sel bakteri (Jiwintarum, 2015).

Pada proses berjalannya penelitian ini terdapat beberapa kendala seperti, peneliti kesulitan dalam perhitungan koloni dikarenakan alat *Colony Counter* yang rusak dan media terlihat keruh dikarenakan tepung ikan penja berwarna abu-abu walau suspensi tepung ikan telah disaring berkali-kali.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ikan penja dapat dijadikan sebagai bahan alternatif untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pengganti media MSA. Konsentrasi media alternatif ikan penja yang terbaik menurut perhitungan statistik adalah media alternatif ikan penja dengan konsentrasi 3%, 5% dan 6%. Namun, media alternatif ikan penja yang efektif secara makroskopi adalah 3% karena koloninya terpisah dan tidak bertumpuk.

SARAN

Saran kepada peneliti selanjutnya adalah untuk mencoba membuat media alternatif berbahan dasar ikan penja dengan menggunakan air rebusan ikan penja agar media tidak terlihat keruh, melakukan uji nutrisi pada ikan penja yang tidak melalui proses penepungan, meningkatkan konsentrasi media alternatif, meningkatkan pengenceran suspensi bakteri agar koloni bakteri tidak bertumpuk pada media, pastikan teknik penyebaran suspensi bakteri merata pada permukaan bakteri, dan mengurangi lama perendaman jika ingin mengurangi kadar garam ikan penja.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. Drs. Rusli, Apt.,Sp.FRS selaku direktur Poltekkes Kemenkes Makassar dan semua pihak yang telah membantu dan ikut serta dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, A., Dwiyaniti, R.D. and Haitami, H. (2016) 'Daya Hambat NaCl terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*', *Medical Laboratory Technology Journal*, 2(2), p. 42. Available at: <https://doi.org/10.31964/mltj.v2i2.125>.
- Anisah and Rahayu, T. (2015) 'Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda Alternative Media For Bacterial Growth Using Different Source of Carbohidrats', *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 10(1), pp. 855–860.
- Atmanto, Y., Asri, L. and Kadir, N. (2022) 'Media Pertumbuhan Kuman', *Jurnal Medika Utama*, 4(1), pp. 3072–3073. Available at: <http://jurnalmedikahutama.com>.
- Chylen, S. (2020) *Bakteriologi Dasar*. I. Edited by M. Mushlih. Sidoarjo: UMSIDA Press.
- Dalynn Biologicals (2014) 'Mannitol salt agar', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(7143), p. 160. Available at: http://www.mibius.de/out/oxbaseshop/html/0/images/wysiwigpro/7143_PI.pdf.
- Dezfulian, A. (2015) 'Staphylococcus aureus katalase-negatif diisolasi dari ulkus kaki diabetik'. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3279781/>.
- Fajriana, H. and Ma'rifatullah, F.R. (2020) 'Kandungan Gizi Tepung Ikan Penja pada Berbagai Metode Pengeringan', *Jurnal Nutrisia*, 21(2), pp. 61–66. Available at: <https://doi.org/10.29238/jnutri.v21i2.133>.
- Fuad abdilah, K. (2021) 'Morphological Characteristics of Air Bacteria', *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 3(2), pp. 353–359.
- Hayati, L.N. et al. (2019) 'Isolation and Identification of *Staphylococcus aureus* in Dairy Milk of The Etawah Crossbred Goat with Subclinical Mastitis in Kalipuro Village, Banyuwangi', *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), pp. 76–82. Available at: <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>.
- Ida, A. (2022) 'Komposisi Kimia Ikan Penja (*Sicyopterus* Sp.) Sungai Budong-Budong, Mamuju Tengah, Sulawesi Barat', *Home / Arc*(Vol 2 (2022): SEMINAR ILMIAH NASIONAL FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS MUSLIM INDONESIA), pp. 92–100.
- Indra, P. (2019) *Teori dan Praktik Perhitungan Organisme*. Available at: <https://laboratoriumstandard.com/2019/04/23/persyaratan-pembuatan-media-pertumbuhan/>.
- Irianto, K. (2014) *Bakteriologi, Mikologi, dan Virologi Panduan Medis dan Klinis*. cetakan ke.
- Jayadi, Y.I. and Rahman, A. (2020) 'Analisis Kandungan Gizi Makro pada Ikan Duo (Penja) Hitam dan Putih Sebagai Pangan Lokal Kota Palu', *Ghidza: Jurnal Gizi dan Kesehatan*, 2(1), pp. 31–

38. Available at: <https://doi.org/10.22487/ghidza.v2i1.5>.
- Jiwintarum, Y., Srigele, L. and Rahmawati, A. (2015) 'Perbedaan Hasil Uji Koagulase Menggunakan Plasma Sitrat Manusia 3,8%, Plasm Sitrat Domba 3,8%, dan Plasma Sitrat Kelinci 3,8% Pada Bakteri *Staphylococcus aureus*', *Jurnal Kesehatan Prima*, 9(2), pp. 1559–1569.
- Karen C. carroll (2017) *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical microbiology*. 27th edn. Edited by A. Yuli. Jakarta: Buku kedokteran EGC.
- Kezia, S. (2016) 'Isolasi Bakteri', *Academia.education* [Preprint]. Available at: https://www.academia.edu/25414170/Isolasi_Bakteri.
- Khan, S. (2019) *Culture Media*. Available at: <https://www.scribd.com/document/362918462/Culture-Media-by-Shyamal>.
- Lastian, E. et al. (2019) 'Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Modifikasi Msa Dengan Sumber Protein Hewani Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Dan Sumber Protein Nabati Ampas Tahu', *Jurnal Analis Kesehatan Sains*, 8(1), p. p. Available at: <http://journal.poltekkesdepkes-sby.ac.id/index.php/ANKES>.
- Mheela, N. (2021) *Penja, ikan Unik Yang Jadi Kuliner Khas Mandar*, *mediatani*. Available at: <https://mediatani.co/penja-ikan-unik-yang-jadi-kuliner-khas-mandar/?amp=1>.
- Natania (2023) *Mari Mengenal Bakteri: Ciri, Struktur, Peranan, dan Pengelompokan*, *medcom.id*. Available at: <https://www.medcom.id/pendidikan/news-pendidikan/Rb1REBek-mari-mengenal-bakteri-ciri-struktur-peranan-dan-pengelompokan>.
- Naykala (2017) *Staphylococcus aureus, dictio*. Available at: <https://www.dictio.id/t/apa-ayang-dimaksud-dengan-bakteri-staphylococcus-aureus/6374>.
- Novitasari, T.M., Rohmi, R. and Inayati, N. (2019) 'Potensi Ikan Teri Jengki (*Stolephorus indicus*) Sebagai Bahan Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*', *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(1), p. 1. Available at: <https://doi.org/10.32807/jambs.v6i1.119>.
- Nurjirana (2019) 'Preliminary note on the morphological characters of penja (amphidromous goby postlarvae) in West Sulawesi and Gorontalo Bay'', *Earth and Environmental Science* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/370/1/012007>.
- Oktafiani, D. and Warella, J.C. (2023) *Mikrobiologi & parasitologi*.
- Pratiwi, T. (2013) *Media Kultur Mikrobiologi*, *scribd*. Available at: <https://www.scribd.com/doc/177087172/Media-Kultur-Mikrobiologi>. Ac.
- Reza Sulaiman (2021) *Bakteri : Pengertian, Ciri, klasifikasi, dan Cara Mereka Mendapatkan makan*, *Suara.com*. Available at: <https://www.suara.com/health/2021/07/07/103417/bakteri-pengertian-ciri-klasifikasi-dan-cara-mereka-dapat-makanan>.
- Sagar, A. (2022) *Mikroba, Catatan Mikroba*. Available at: [https://microbenotes-com.translate.goog/mannitol-salt-agar-
msa/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=id&_x_tr_hl=id&_x_tr_pto=tc](https://microbenotes-com.translate.goog/mannitol-salt-agar-msa/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=id&_x_tr_hl=id&_x_tr_pto=tc).
- Sari (2017) 'Potensi Penggunaan Media Teknis Sebagai Pengganti Media Sea Water Complete (SWC) Untuk Mendukung Pertumbuhan Bakteri *Bacillus sp*', *Sains Teknologi Akuakultur*, pp. 95–103.
- Suhartati, R., Sulistiani and Nuraini, A. (2018) 'Pemanfaatan Serbuk Kacang Kedelai (Glycine Max) Sebagai Bahan Pembuatan Media Manitol Salt Agar(MSA) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus*', *Prosiding Seminar Nasional dan Diseminasi Penelitian Kesehatan*, (April), pp. 163–167.
- Susanti, M. (2022) 'Pemanfaatan Variasi Sumber Karbohidrat Dari Palawijaya Sebagai Alternatif Media Sintetik Untuk Pertumbuhan Bakteri', 7(2), pp. 61–67.
- Toelle, N.N., Lenda, V. (2014) 'Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial.'
- Varghese, N. and Joy, P.P. (2016) 'Microbiology Laboratory Manual', *Microbiology Laboratory Manual* [Preprint], (January 2014).
- Victoria, P. (2023) 'NoMengetahui *Staphylococcus aureus*, Bakteri Penyebab Keracunan Makanan', *IDN TIMES* [Preprint]. Available at: <https://www.google.com/amp/s/www.idntimes.com/health/medical/amp/victor-p-6/fakta->

staphylococcus-aureus-bakteri-penyebab-keracunan-makanan-c1c2.