

Potensi Limbah Udang Sebagai Media Alternatif Pengganti Pepton Pada Media Mannitol Salt Agar Untuk Isolasi *Staphylococcus aureus*

Shrimp Waste Potential as Peptone Substitute in Mannitol Salt Agar Isolation *Staphylococcus aureus*

Zulfikar Ali Hasan, Windah Zufiyani Abduh, Ridho Pratama, Herman
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Makassar
[*fikaroxy@gmail.com](mailto:fikaroxy@gmail.com) : 081242368535

ABSTRACT

Mannitol Salt Agar (MSA) is a selective and differential medium commonly used for the isolation of *Staphylococcus aureus*. One of its essential components is peptone, which serves as a source of nitrogen and other nutrients to support bacterial growth. However, commercial peptone is relatively expensive and largely dependent on imports. To overcome this limitation, natural protein-rich materials can be explored as alternative sources. Shrimp waste, known for its high protein content, is abundant, inexpensive, and has not been fully utilized. Therefore, it holds potential as an alternative ingredient to replace peptone in MSA media. This study aimed to evaluate the potential of shrimp waste-derived peptone as a substitute for commercial peptone in MSA. The research was conducted from May 5 to 26, 2025, at the Microbiology Laboratory of Poltekkes Kemenkes Makassar, using a true experimental design with purposive sampling. Shrimp waste was processed into peptone through enzymatic hydrolysis with papain enzyme, then incorporated into alternative MSA formulations at concentrations of 0.5%, 0.75%, and 1%. The effectiveness of these formulations was tested against a pure culture of *Staphylococcus aureus*, with commercial MSA serving as the control. Each treatment was repeated three times to ensure accuracy. The results showed that shrimp waste peptone successfully supported *S. aureus* growth. The average colony counts were 233×10^{-1} CFU/mL for 0.5%, 231×10^{-1} CFU/mL for 0.75%, 209×10^{-1} CFU/mL for 1%, and 250×10^{-1} CFU/mL for the commercial control. These findings indicate that shrimp waste peptone can provide comparable results to commercial peptone. In conclusion, shrimp waste has significant potential as an economical and sustainable alternative to commercial peptone in Mannitol Salt Agar, reducing dependency on imported products while also supporting waste utilization.

Keywords : Alternative Media, Shrimp Waste, Peptone, Mannitol Salt Agar, *Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Mannitol Salt Agar (MSA) digunakan sebagai media selektif dan diferensial untuk isolasi *Staphylococcus aureus*. Salah satu komponen utama MSA adalah pepton yang berfungsi sebagai sumber nitrogen dan nutrisi penting untuk menunjang pertumbuhan bakteri. Pepton komersial memiliki harga yang relatif mahal dan umumnya masih bergantung pada impor. Pepton dapat diperoleh dari bahan alam yang kaya protein. Limbah udang memiliki kandungan protein tinggi, sehingga berpotensi menjadi sumber nutrisi alternatif bagi pertumbuhan bakteri, jumlahnya melimpah dan mudah diperoleh, serta merupakan limbah organik yang belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian bertujuan untuk mengetahui potensi limbah udang sebagai bahan alternatif pengganti pepton dalam media MSA. Metode penelitian true eksperiment dilaksanakan pada tanggal 15 sampai 26 Mei 2025 di Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Makassar. Pengambilan sampel secara purposive sampling berdasarkan kriteria. Limbah udang diolah menjadi pepton melalui proses hidrolisis enzimatis menggunakan enzim papain. Pepton hasil hidrolisis kemudian diformulasikan ke dalam media alternatif MSA dengan 3 variasi konsentrasi yaitu 0,5%, 0,75%, dan 1%. Efektivitas Media Alternatif MSA diuji menggunakan biakan murni *Staphylococcus aureus* dengan MSA komersil sebagai kontrol uji. Pengulangan sebanyak 3 kali dilakukan pada setiap perlakuan sampel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media Alternatif MSA yang diformulasikan dengan pepton dari limbah udang mampu mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan jumlah rata-rata koloni 209×10^{-1} CFU/mL pada media alternatif MSA konsentrasi 1%, 231×10^{-1} CFU/mL pada media alternatif MSA konsentrasi 0,75%, 233×10^{-1} CFU/mL pada media alternatif MSA konsentrasi 0,5% dan 250×10^{-1} CFU/mL pada MSA Kontrol. Limbah udang berpotensi sebagai bahan alternatif pengganti pepton pada media MSA yang lebih ekonomis dan berkelanjutan.

Kata kunci : Media Alternatif, Limbah Udang, Pepton, Mannitol Salt Agar, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Media pertumbuhan mikroorganisme merupakan campuran nutrisi yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan serta perkembangbiakan mikroorganisme. Media ini berperan penting dalam diagnosis penyakit infeksi, isolasi, identifikasi sifat fisiologis, hingga perhitungan jumlah mikroorganisme (Atmanto et al., 2020). Nutrisi dalam media dapat berupa senyawa sederhana maupun kompleks yang kemudian diuraikan dengan bantuan enzim (Adriani et al., 2023). Berdasarkan fungsinya, media pertumbuhan dapat dikategorikan menjadi media dasar, non selektif, selektif, diferensial, dan diperkaya. Salah satu media yang banyak digunakan adalah Mannitol Salt Agar (MSA), yang bersifat selektif sekaligus diferensial untuk isolasi *Staphylococcus aureus* (Atmanto et al., 2020).

Komponen utama dalam MSA antara lain ekstrak daging, pepton, NaCl, manitol, phenol red, dan agar. Pepton berperan penting sebagai sumber nitrogen, karbon, vitamin, dan nutrisi esensial yang dibutuhkan bakteri. Namun, ketersediaan pepton masih sangat bergantung pada impor dengan harga yang relatif mahal, sehingga menjadi kendala bagi laboratorium dengan anggaran terbatas (Manik et al., 2024; Pratomo et al., 2019). Kondisi ini mendorong perlunya alternatif pepton yang lebih ekonomis namun tetap mampu mendukung pertumbuhan bakteri.

Indonesia memiliki potensi sumber daya laut yang melimpah, termasuk limbah perikanan yang kaya protein. Beberapa penelitian sebelumnya telah berhasil memanfaatkan bahan seperti jeroan ikan tongkol Nurhayati et al., (2013), ikan teri jengki Novitasari et al., (2019) dan ikan penja Rafika et al., (2024) sebagai pengganti pepton dalam media MSA. Salah satu sumber protein tinggi yang belum dimanfaatkan secara optimal adalah limbah udang berupa kepala, kulit, dan ekor. Kandungan protein limbah udang dilaporkan berkisar antara 20–72% dan kaya akan asam amino esensial (Cahyono, 2018; Dey & Dora, 2014; Mathivanan et al., 2021). Selain berpotensi sebagai sumber nutrisi, pemanfaatan limbah udang juga mendukung prinsip keberlanjutan dengan mengurangi pencemaran lingkungan akibat limbah organik.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi limbah udang sebagai bahan alternatif pengganti pepton dalam Mannitol Salt Agar (MSA) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true eksperimen* dengan memanfaatkan limbah udang sebagai pengganti pepton pada media Mannitol Salt Agar (MSA) untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Makassar. Penelitian ini berlangsung pada tanggal 5 hingga 26 Mei 2025.

Populasi dan sampel penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh udang utuh yang berpotensi menghasilkan limbah berupa kepala dan cangkang. Sampel yang digunakan berupa limbah udang segar yang belum melalui proses pengolahan. Pemilihan sampel dilakukan dengan teknik *purposive sampling* yaitu secara sengaja berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan.

Alat dan bahan

Penelitian ini menggunakan beberapa alat di antaranya timbangan analitik, stirer, waterbath, kertas, nylon, ayakan, oven dan blender. Proses pembuatan media dan inokulasi bakteri dilakukan dengan menggunakan berbagai alat laboratorium, antara lain hot plate, autoklaf, erlenmeyer, beaker glass, cawan petri, tabung reaksi, kapas, ose, lampu spiritus, gelas ukur, sendok tanduk, batang pengaduk (bulat maupun segitiga), kertas pH, objek glass, pipet, serta mikroskop. Penelitian ini menggunakan beberapa bahan di antaranya tepung limbah udang, enzim papain, media MSA, pepton limbah udang, *mannitol*, *phenol red*, NaCl, agar, *ekstrak beef*, minyak imersi, bahan pewarnaan gram, bakteri mumi *Staphylococcus aureus*, NaCl 0,9% dan aquadest.

Prosedur kerja

1. Pembuatan Tepung Limbah Udang

Pembuatan pepton diawali dengan pembuatan tepung limbah udang yaitu dengan limbah udang yang telah dipisahkan dari daging kemudian dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu kemudian limbah udang oven digunakan untuk mengeringkan sampel pada suhu 60 °C untuk mengurangi kadar airnya agar tidak cepat busuk, mudah digiling atau diekstrak serta menjaga kandungan protein tetap utuh. Limbah udang kemudian dihancurkan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 80 mess hingga mendapatkan tepung limbah udang (Novitasari et al., 2019).

2. Pembuatan Pepton Limbah Udang

Pembuatan pepton limbah udang dilakukan melalui reaksi hidrolisis enzimatis menggunakan enzim papain. Tepung limbah udang dilakukan hidrolisis protein dengan cara menimbang enzim dan limbah udang dengan perbandingan 0.5:2.5, 0.75:3.75 dan 1:5. Mengencerkan enzim sesuai variasi kemudian mencampurkan larutan dengan menggunakan erlenmayer, setelah itu diinkubasi pada suhu 60 derajat sambil diaduk menggunakan stirrer 500 rpm selama 1 jam. Dilakukan inaktivasi enzim pada suhu 90 derajat selama 10 menit dalam water bath lalu disaring dengan menggunakan nilon mess (Rafika et al., 2024).

3. Pembuatan Media Alternatif MSA dari Limbah Udang

Masing-masing variasi pepton cair dipipet sebanyak 1000 µL kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer ukuran 250 mL dan ditambahkan aquadest sebanyak 100 mL. Campuran tersebut dipanaskan di atas hot plate sambil terus diaduk dalam Erlenmeyer. Kemudian ditambahkan NaCl 7,5 gram, mannitol 1 gram, ekstrak beef 0,1 gram, phenol red 0,0025 gram, dan bacto agar 1,2 gram. Kemudian serbuk media dilarutkan dengan cara dipanaskan di hot plate hingga homogen. pH larutan kemudian diuji menggunakan kertas pH dan dipastikan berada pada rentang 7,2–7,6, jika tidak netral dapat ditambahkan HCl/NaOH kemudian erlenmeyer ditutup pada bagian mulut dengan kapas dan selanjutnya Setelah dibalut dengan koran, media disterilkan memakai autoklaf pada 121 °C selama 15 menit. Setelah dituang ke cawan petri yang telah disterilkan, media dibiarkan hingga suhunya turun dan memadat (Rafika et al., 2024).

4. Pembuatan Media MSA Sebagai Kontrol

Ditimbang 7,02 gram media MSA kemudian Serbuk media dilarutkan dalam 65 mL aquadest, kemudian dipanaskan di atas hot plate sambil diaduk hingga homogen. Setelah itu, pH media diperiksa menggunakan kertas indikator dan dipastikan berada pada kisaran 7,2–7,6. Bila sesuai, Sterilisasi dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit setelah erlenmeyer diberi penutup kapas dan dibungkus koran. Media steril selanjutnya dituangkan ke cawan petri steril dan dibiarkan setelah itu didiamkan pada kondisi ruang hingga mendingin serta memadat siap dipakai (Rafika et al., 2024).

5. Uji Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada Media MSA

Pembuatan suspensi dilakukan dengan cara mengambil koloni *Staphylococcus aureus* hasil peremajaan pada Nutrient Agar menggunakan satu ose. Kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan NaCl 0,9 % steril sampai kekeruhannya setara dengan standar Mc Farland 0,5. Inokulasi dilakukan dengan memipet 0,1 mL suspensi *Staphylococcus aureus* yang disesuaikan dengan standar McFarland 0,5, kemudian dituang ke dalam media MSA maupun media berbahan limbah udang. Penyebaran suspensi bakteri dilakukan memakai batang segitiga penggores pada permukaan media.segitiga secara merata. Pengulangan yang digunakan pada setiap variasi perlakuan sampel sebanyak 3 kali. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Zamilah et al., 2020).

Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel disertai deskripsi hasil. Data berupa hasil pengamatan makroskopik, mikroskopik dan hasil hitung jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* Kontrol berupa media komersial digunakan sebagai kontrol kualitas uji dan menilai efektifitas media alternatif limbah udang.

HASIL

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Makassar pada tanggal 5-26 Mei 2025. Penelitian bertujuan untuk menguji efektifitas limbah udang sebagai sumber alternatif dalam formulasi media untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Limbah udang ini dapat menjadi alternatif pembuatan media pepton yang lebih ekonomis dan mudah diperoleh dibandingkan pepton komersial, dengan kandungan protein yang tinggi sehingga dapat menjadi sumber nutrisi yang dibutuhkan bagi pertumbuhan bakteri. Data hasil penelitian media alternatif limbah udang yang telah dilakukan disajikan dalam bentuk tabel yang disertai dengan deskripsi hasil analisis sebagai berikut :

Tabel 1
Pengamatan *Staphylococcus aureus* yang ditumbuhkan pada media MSA secara makroskopis dan mikroskopis

No	Media	Makroskopis			Mikroskopis	
		Bentuk	Ukuran	Warna	Gram	Positif
1	0,5%	S	Bulat kecil, terpisah, tersebar banyak	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)
		D	Bulat kecil, terpisah, tersebar banyak	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)
		T	Bulat kecil, tersebar banyak	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)
2	0,75%	S	Bulat kecil, tersebar banyak, ada yang menyatu	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)
		D	Bulat kecil, tersebar banyak	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)
		T	Bulat kecil, tersebar banyak	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)
3	1%	S	Bulat kecil, tersebar banyak, ada yang menyatu	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)
		D	Bulat kecil, ada yang menyatu	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)
		T	Bulat kecil, tersebar banyak, ada yang menyatu	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)
4	Kontrol		Bulat kecil, tersebar banyak	Sangat kecil	Kuning	Gram (kokus bergerombol)

Keterangan: S= Simplo, D= Duplo, T= Triplo

Tabel 1 Setelah diinokulasi pada media kontrol MSA dan media alternatif berbahan limbah udang *Staphylococcus aureus* diinkubasi selama 24 jam kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa pada media tepung limbah udang (simplo, duplo, dan triplo) terbentuk koloni berwarna kuning, berukuran sangat kecil, berbentuk bulat, tersebar cukup banyak dan sebagian tampak saling berkumpul hingga terlihat sebagai koloni tunggal yang besar dimana jumlahnya diragukan maka dihitung sebagai satu koloni dan terdapat pula koloni yang tumbuh berderet membentuk rantai sehingga tampak sebagai garis tebal, dan perhitungan dianggap sebagai satu koloni.

Analisis dengan mikroskop memperlihatkan bahwa bakteri yang tumbuh adalah kokus gram positif yang bergerombol yang sesuai dengan ciri *Staphylococcus*. Setelah tahap observasi makroskopis maupun mikroskopis media kontrol MSA diamati untuk menentukan jumlah koloninya serta media alternatif berbahan limbah udang dengan variasi konsentrasi simplo, duplo, dan triplo. Data jumlah koloni *Staphylococcus aureus* pada kedua media tersebut disajikan pada tabel berikut:

Tabel 2
Data perhitungan koloni *Staphylococcus aureus* pada media alternatif berbahan limbah udang dan media kontrol MSA.

No	Konsentrasi Media (%)	Jumlah Koloni/Replikasi			Σ	Rata-rata ($\times 10^{-1} CFU/mL$)
		S	D	T		
1	0,5	231	229	239	699	233
2	0,75	229	238	226	693	231
3	1	211	217	201	629	209,67
4	Kontrol	256	243	251	750	250

Keterangan: S= Simplo, D= Duplo, T= Triplo

Tabel di atas memperlihatkan bahwa penambahan variasi konsentrasi memberikan hasil yang dapat dibandingkan koloni yang tumbuh pada media kontrol MSA terlihat memiliki perbedaan. Dimana pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* lebih banyak di media kontrol MSA yaitu rata-rata (*mean*) jumlah koloni 250. Sedangkan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditanam pada media alternatif limbah udang dengan konsentrasi 1% mengalami pertumbuhan yang lebih rendah dibandingkan media alternatif limbah udang konsentrasi 0,5%. Adapun jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditanam pada media alternatif limbah udang dengan konsentrasi 0,75% mengalami pertumbuhan yang hampir sama dengan media alternatif limbah udang konsentrasi 0,5%. Jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* terbanyak pada media alternatif limbah udang konsentrasi 0,5% yaitu $233 \times 10^{-1} CFU/mL$ dan pada media MSA jumlah koloninya yaitu $250 \times 10^{-1} CFU/mL$.

PEMBAHASAN

Media MSA merupakan media selektif dan diferensial yang umum digunakan untuk isolasi *Staphylococcus aureus*. Media ini mengandung NaCl dalam konsentrasi tinggi 7,5%-10% sehingga hanya bakteri halofilik seperti *Staphylococcus* yang dapat tumbuh. Selain itu, diferensiasi dilakukan dengan melihat kemampuan bakteri dalam memfermentasi manitol, yang ditandai dengan perubahan warna indikator pH phenol red dari merah menjadi kuning (Daly, 2014). Kandungan nutrisi berupa pepton dan ekstrak daging yang terdapat dalam media MSA menjadi krusial untuk mendukung pertumbuhan bakteri selama proses inkubasi.

Berdasarkan penelitian efektifitas limbah udang digunakan sebagai media alternatif untuk mendukung pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* telah dilakukan pengamatan baik secara makroskopis dengan melihat bentuk, ukuran dan warna serta secara mikroskopis dengan mengamati morfologi bakteri diperoleh hasil media uji dengan konsentrasi 0,5%, 0,75% dan 1%,

semuanya mampu menumbuhkan koloni *Staphylococcus aureus* dengan karakteristik khas berbentuk bulat, kecil, koloni berwarna kuning dan pada pengamatan mikroskopis menggunakan pewarnaan gram didapatkan berbentuk coccus tersusun secara bergerombol yang merupakan ciri khas bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pertumbuhan koloni pada media alternatif limbah udang menunjukkan bahwa limbah udang memiliki kandungan nutrisi terutama protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil pengamatan secara makroskopik berdasarkan bentuk, ukuran dan warna media didapatkan hasil yaitu pada setiap konsentrasi pertumbuhan koloni bakteri berukuran sangat kecil, bulat, tersebar banyak, terdapat beberapa koloni yang bergabung menjadi satu. Hal ini menunjukkan pada semua konsentrasi media menghasilkan ukuran yang sama dengan yang terlihat pada media kontrol MSA. Temuan ini mengindikasikan bahwa variasi kandungan nutrisi pada tiap konsentrasi media alternatif limbah udang berpengaruh terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hasil pertumbuhan koloni semua konsentrasi media alternatif limbah udang berukuran kecil-kecil dan beberapa koloni saling menempel hingga tampak sebagai satu koloni dan perhitungannya dianggap satu. Berdasarkan data yang dilaporkan oleh Mathivanan et al., (2021) limbah udang memiliki kandungan protein sebesar 38,32 g per 100 g. Sementara menurut Dey & Dora, (2014) hidrolisat protein limbah udang memiliki kadar protein mencapai 72,3% dan Harahap (2018) hidrolisat protein limbah udang mencapai 84,81%. Perbedaan hasil pertumbuhan pada variasi konsentrasi media alternatif (0,5%, 0,75% dan 1%) disebabkan oleh perbedaan kandungan nutrisi khususnya protein. Konsentrasi protein yang berbeda dalam media akan mempengaruhi laju dan ukuran pertumbuhan koloni. Media dengan kandungan nutrisi optimal akan mendorong pertumbuhan koloni yang lebih besar dan terpisah, sementara nutrisi yang kurang optimal menyebabkan koloni tumbuh kecil dan saling menempel. Penumpukan koloni yang bertumbuh berdempetan dan bergabung bisa disebabkan oleh ketersediaan nutrisi yang terbatas sehingga pertumbuhan difokuskan di area tertentu serta kondisi inkubasi, pH, dan kesesuaian media dengan karakteristik bakteri juga relevan dalam menentukan pola pertumbuhan koloni.

Hasil pengamatan juga menunjukkan adanya beberapa koloni yang bergabung. Hal ini dikarenakan apabila proses inokulasi tidak dilakukan dengan benar dapat terjadi fenomena spreader yaitu pertumbuhan bakteri yang sangat padat sehingga morfologi koloni tampak saling bertumpuk dan sulit dibedakan. Kejadian ini umumnya disebabkan oleh inokulum yang tidak diencerkan secara optimal, sehingga jumlah bakteri yang ditanam terlalu banyak dan menyebabkan pertumbuhan berlebih pada media. Jika penyebaran inokulum tidak merata di permukaan media, maka koloni bakteri cenderung tumbuh terkonsentrasi di satu area saja, sehingga hasil pengamatan menjadi kurang representatif (Kezia, 2016). Hasil penelitian Rafika et al., (2024) mendukung temuan tersebut yang membuat media alternatif ikan penja menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan koloni bakteri berukuran kecil terdapat beberapa koloni yang bergabung.

Berdasarkan pengamatan makroskopis, terlihat perubahan warna pada media alternatif terlihat perubahan warna dari merah menjadi kuning dan hal tersebut tampak konsisten pada seluruh konsentrasi media menghasilkan warna yang sama dengan yang terlihat pada media kontrol MSA. Perubahan ini disebabkan oleh aktivitas bakteri yang mampu memfermentasi manitol. Hasil penelitian Novitasari et al., (2019) mendukung temuan tersebut terjadi perubahan warna pada media MSA dari hasil isolasi *Staphylococcus aureus* memperlihatkan bahwa media alternatif ikan teri jengki menghasilkan zona fermentasi manitol terluas, ditandai dengan warna kuning keemasan yang lebih jelas. *Staphylococcus aureus* yang tumbuh di media MSA akan membentuk koloni dengan zona berwarna kuning keemasan di sekitarnya karena kemampuannya memfermentasi manitol. Sebaliknya, jika mikroba tidak bisa memfermentasi manitol, zona tersebut tidak akan muncul. Warna kuning inilah yang bisa digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* tahan terhadap garam tetapi tidak mampu memfermentasi manitol sehingga media tetap berwarna merah (Ibrahim et al., 2017).

Berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis diperoleh hasil pengamatan bakteri gram positif berbentuk kokus pada semua konsentrasi media alternatif limbah udang, hasil tersebut sama dengan pengamatan bakteri yang tumbuh pada media kontrol MSA. Hasil pengamatan

bakteri sesuai dengan karakteristik *Staphylococcus* yaitu berwarna ungu pada sel menunjukkan bahwa bakteri mampu mempertahankan pewarna kristal violet, yang menandakan bahwa sel tersebut termasuk gram positif (Abdilah & Kurniawan, 2022). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Suhartati et al., (2018) pembuatan media manitol salt agar untuk pertumbuhan bakteri *staphylococcus* didapatkan gram positif berbentuk kokus.

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media Mannitol Salt Agar yang menggunakan pepton limbah udang dengan variasi konsentrasi 1%, 0,75%, dan 0,5%, serta kontrol MSA standar, diperoleh rata-rata jumlah koloni yang berbeda-beda. Pada media kontrol yang menggunakan pepton standar, jumlah koloni rata-rata adalah $250 \times 10^{-1} \text{ CFU/mL}$, yang menjadi pembanding utama dalam penelitian ini. Sementara itu, pada konsentrasi 0,5%, rata-rata jumlah koloni tercatat sebesar $233 \times 10^{-1} \text{ CFU/mL}$, yang sedikit lebih rendah dibandingkan kontrol namun tetap menunjukkan kemampuan pertumbuhan yang cukup tinggi. Selanjutnya, media dengan konsentrasi 0,75% menghasilkan rata-rata jumlah koloni sebesar $231 \times 10^{-1} \text{ CFU/mL}$, sedikit lebih rendah dari 0,5% namun tidak berbeda jauh. Media dengan konsentrasi 1%, yang merupakan konsentrasi tertinggi dalam penelitian ini, justru menunjukkan jumlah koloni paling rendah yaitu $209,67 \times 10^{-1} \text{ CFU/mL}$. Data ini menunjukkan bahwa media MSA dengan pepton dari limbah udang pada konsentrasi 0,5% dan 0,75% mampu mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang mendekati jumlah koloni pada media kontrol. Bahkan, konsentrasi 0,5% menunjukkan jumlah koloni paling tinggi di antara ketiga variasi, meskipun masih sedikit di bawah kontrol. Sementara itu, pada konsentrasi 1%, pertumbuhan bakteri tampak sedikit menurun.

Penggunaan pepton limbah udang sebagai alternatif dalam media MSA memiliki potensi yang cukup baik, terutama pada konsentrasi yang lebih rendah (0,5% dan 0,75%). Namun, pada konsentrasi yang lebih tinggi (1%), kemungkinan terjadi kejemuhan nutrisi atau kondisi lain yang kurang mendukung pertumbuhan optimal bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa media MSA dengan penambahan pepton dari limbah udang pada konsentrasi 0,5% menghasilkan rata-rata jumlah koloni *Staphylococcus aureus* sebesar $233 \times 10^{-1} \text{ CFU/mL}$, yang paling mendekati jumlah koloni pada media kontrol ($250 \times 10^{-1} \text{ CFU/mL}$). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 0,5% mampu menyediakan nutrisi yang cukup bagi pertumbuhan bakteri tanpa menimbulkan efek penghambatan. Pada konsentrasi ini, kemungkinan kandungan protein dan zat organik dalam limbah udang berada pada tingkat yang seimbang, sehingga bakteri dapat memanfaatkannya secara optimal.

Sebaliknya, pada konsentrasi yang lebih tinggi seperti 0,75% dan 1%, justru terjadi penurunan jumlah koloni. Hal ini karena adanya kejemuhan nutrisi atau kemungkinan meningkatnya senyawa pengganggu seperti sisa enzim atau senyawa antimikroba alami yang terkandung dalam limbah udang. Senyawa-senyawa ini pada kadar tinggi dapat mengganggu keseimbangan osmotik media atau bahkan menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu, perubahan pH atau kestabilan media akibat konsentrasi limbah yang terlalu tinggi juga dapat memengaruhi kemampuan bakteri dalam beradaptasi.

Perbedaan hasil pertumbuhan koloni tersebut kemungkinan besar disebabkan oleh ketersediaan nutrisi yang berbeda pada setiap konsentrasi media alternatif. Media alternatif yang berbahan dasar limbah udang memiliki kandungan protein yang bervariasi sesuai dengan konsentrasi media yang digunakan sehingga mempengaruhi ketersediaan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Pepton limbah udang dan pepton pada media MSA mengandung komponen protein yang telah dihidrolisis menjadi peptida dan asam amino sebagai sumber nitrogen. Keduanya sama-sama mengandung pepton sebagai hasil proteolisis protein yaitu proses pemecahan atau penguraian molekul melalui proses enzimatik protease. Pepton limbah udang merupakan produk hasil hidrolisis protein dari limbah udang yang mengandung peptide-peptida dan asam amino yang dapat digunakan mikroorganisme sebagai sumber nutrisi. Protein udang yang dipecah menghasilkan pepton dengan profil asam amino khas udang termasuk asam amino esensial dan non-esensial. Sedangkan Media MSA menggunakan pepton sebagai sumber nitrogen untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Pepton ini biasanya berasal dari hidrolisis protein seperti kasein, yang menyediakan campuran asam amino dan peptida untuk nutrisi (Mathivanan et al., 2021; Missiakas & Schneewind, 2018; Rossi et al., 2024).

Media alternatif berbasis limbah udang dapat mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan konsentrasi optimal yang dianjurkan berdasarkan penelitian ini adalah 0,5% yang memberikan hasil pertumbuhan koloni yang hampir sama dengan media kontrol MSA. Dengan demikian, konsentrasi 0,5% dapat dianggap sebagai konsentrasi optimal dalam penelitian ini, karena mampu mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara efektif dan mendekati hasil pada media standar.

Secara keseluruhan penelitian ini membuktikan bahwa limbah udang dapat dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen alternatif dalam media MSA. Hal ini membuka peluang penggunaan limbah industri perikanan yang murah dan melimpah sebagai alternatif bahan media mikrobiologi terutama di laboratorium pendidikan atau skala kecil yang membutuhkan efisiensi biaya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa media alternatif MSA yang diformulasikan dengan pepton dari limbah udang mampu mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Jumlah rata-rata koloni 209×10^{-1} CFU/mL pada media alternatif MSA konsentrasi 1%, 231×10^{-1} CFU/mL pada media alternatif MSA konsentrasi 0,75%, 233×10^{-1} CFU/mL pada media alternatif MSA konsentrasi 0,5% dan 250×10^{-1} CFU/mL pada MSA Kontrol. Efektifitas bakteri pada media MSA masih lebih efektif dari media alternatif. Limbah udang berpotensi sebagai bahan alternatif pengganti pepton pada media MSA yang lebih ekonomis dan berkelanjutan.

SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menguji konsentrasi substrat yang optimal serta menguji efektivitas media alternatif lain dengan bahan dasar pepton limbah udang terhadap jenis bakteri lain selain *Staphylococcus aureus* agar bisa lebih diketahui efektivitas media ini terhadap berbagai bakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Dr. Drs. Rusli, Apt.,Sp.FRS selaku direktur Poltekkes Kemenkes Makassar dan semua pihak yang telah membantu dan ikut serta dalam penelitian ini. Kepada Direktorat Jenderal Tenaga Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia karena telah diberi kesempatan pada penulis sebagai salah satu peserta penerima beasiswa bantuan tugas belajar tahun 2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdilah, F., & Kurniawan, K. (2022). Morphological Characteristics of Air Bacteria in Mannitol Salt Agar Medium. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 5(1), 353–359. <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v5i1.4438>
- Adriani, I. T. S. E., Yuniarti, Murtafi'ah, L. R. N., Nasri, E. D. P. H. A. S. M. R., & Putri, R. Y. S. (2023). *Mikrobiologi* (M. P. Andriyanto, S.S. (ed.); Vol. 3, Issue 1). Penerbit Lakeisha.
- Atmanto, Y. K. A. A., Asri, L. A., & Kadir, N. A. (2020). Media Pertumbuhan Kuman. *Jurnal Medika Hutama*, 04(01), 3069–3075. <http://jurnalmedikahutama.com>
- Cahyono, E. (2018). Karakteristik Kitosan dari Limbah Cangkang Udang Windu (Panaeus monodon). *Jurnal Akuatika Indonesia*, 3(2), 96–102.
- Dalynn, B. (2014). Mannitol salt agar. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(7143), 160. http://www.mibius.de/out/oxbaseshop/html/0/images/wysiwigpro/7143_PI.pdf
- Dey, S. S., & Dora, K. C. (2014). Optimization of the production of shrimp waste protein hydrolysate using microbial proteases adopting response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 51(1), 16–24. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0455-4>
- Harahap, M. S. (2018). Pengaruh Penambahan Konsentrasi Enzim Papain Yang Berbeda Terhadap Karakteristik Hidrolisat Protein Udang Rebon (*Acetes erythraeus*).
Ibrahim, J., Kiramang, K., &, & Irmawaty. (2017). Tingkat Cemaran Bakteri *Staphylococcus*

- aureus Pada Daging Ayam Yang Di Jual Di Pasar Tradisional Makasar, 3, . 3, 169–181.*
- Kezia, S. (2016). Isolasi Bakteri. *Academia.Education.*
https://www.academia.edu/25414170/Isolasi_Bakteri.
- Manik, B. S. S., Diapari, D., Nurhayati, T., &, & Wijayanti, I. (2024). *Karakteristik Pepton Ikan Kembung (Rastrelliger sp .) Tidak Layak Konsumsi dan Aplikasi Pada Pertumbuhan Wickerhamomyces anomalus.* 27. *journal.ipb.ac.id/index.php/jphpi*
- Mathivanan, A., Ravikumar, S., Selvakumar, G., & Devanandh, K. (2021). Utilization of Shrimp waste as a novel media for marine bacteria isolation. *Biotech*, 11(1), 1–5.
<https://doi.org/10.1007/s13205-020-02564-z>
- Missiakas, D. M., & Schneewind, O. (2018). *Growth and Laboratory Maintenance of Staphylococcus aureus Curr Protoc Microbiol.* 1–12.
<https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc09c01s28.Growth>
- Novitasari, T. M., Rohmi, R., & 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). <https://doi.org/10.32807/jambs.v6i1.119>
- Nurhayati, T., Desniar, & Suhandana, M. (2013). Pembuatan pepton secara enzimatis menggunakan bahan baku jeroan ikan tongkol. *Jphpi*, 16(1).
- Pratomo, M. D., Wardani, D. W., & Jaziri, N. A. R. A. A. (2019). Karakteristik Pepton Sebagai Media Pertumbuhan Bakteri Yang Terjamin Halal Dari Limbah Kurisi (*Nemipterus sp.*). *Nasional Kelautan*, 1(1), 1–9.
- Rafika, Pratama, R., Djasang, S., Mursalim, & Andini, Z. S. (2024). Pemanfaatan Ikan Penja (*Awaous melanocephalus*) Sebagai Media Alternatif Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 15(1), 56–65.
<https://ojs3.poltekkes-mks.ac.id/index.php/medankes%0Ap-ISSN>
- Rossi, N., Grosso, C., & Delerue-Matos, C. (2024). Shrimp Waste Upcycling: Unveiling the Potential of Polysaccharides, Proteins, Carotenoids, and Fatty Acids with Emphasis on Extraction Techniques and Bioactive Properties. *Marine Drugs*, 22(4).
<https://doi.org/10.3390/md22040153>.
- Suhartati, R., Sulistiani, & Nuraini, A. (2018). Pemanfaatan Serbuk Kedelai (*Glycine max*) Sebagai Bahan Pembuatan Media Manitol Salt Agar (MSA) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus*. *Prosiding Seminar Nasional Dan Diseminasi Penelitian Kesehatan*, 163–167.
- Zamilah, M., Ruhimat, U., & Setiawan, D. (2020). Media Alternatif Kacang Tanah Untuk Pertumbuhan Bakteri. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabs)*, 1(1), 57–65.