

**POTENSI IKAN KAKAP MERAH (*LUTJANUS CAMPECHANUS*) SEBAGAI
ALTERNATIF SUMBER NUTRISI PENGGANTI *BEEF EXTRACT* PADA
MEDIA NUTRIENT AGAR UNTUK PERTUMBUHAN BAKTERI
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

*The Potential of Red Snapper (*Lutjanus campechanus*) as an Alternative Nutritional Source to Replace Beef Extract in Nutrient Agar for the Growth of *Staphylococcus aureus* Bacteria.*

Zulfikar Ali Hasan, Nuradi, Rafika, Pratiwi Purnama Ashary

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar, Indonesia

Koresponden: purnamapратиwi1004@gmail.com/085974320006

ABSTRACT

*Beef extract is one of the components in Nutrient Agar (NA) that serves as a source of protein, amino acids, vitamins, and essential minerals. However, its use is limited due to high production costs. Red snapper contains protein, amino acids, vitamins, and minerals, making it a potential alternative to beef extract in culture media. This study aimed to evaluate the potential of red snapper fish powder as a nutritional substitute for beef extract in Nutrient Agar for the growth of *Staphylococcus aureus*. The research was conducted from May 5 to 27, 2025, at the Bacteriology Laboratory, Department of Medical Laboratory Technology, Poltekkes Kemenkes Makassar. Red snapper samples were obtained through purposive sampling from Lelong Paotere Market, Makassar, while the bacterial isolate was sourced from the Public Health Laboratory Center, Makassar. The method used was a laboratory experiment comparing bacterial growth on control media (standard Nutrient Agar) and alternative media (red snapper fish powder) at concentrations of 1%, 3%, and 5%. The results showed that bacteria were able to grow on all variations of the alternative media, with the highest colony count observed at 3% concentration. Colony morphology resembled the control, characterized by small to medium round shapes, smooth, shiny surfaces, and white coloration. In conclusion, red snapper fish powder has the potential to be used as an alternative to beef extract in Nutrient Agar media.*

Keywords : *Beef extract, Red Snapper, Nutrient Agar, Alternative media, Staphylococcus Aureus,*

ABSTRAK

*Beef extract merupakan salah satu komponen dalam media Nutrient Agar (NA) yang berfungsi sebagai sumber protein, asam amino, vitamin, dan mineral esensial. Namun, penggunaannya memiliki keterbatasan karena biaya produksi yang tinggi. Ikan kakap merah mengandung protein, asam amino, vitamin, dan mineral yang berpotensi menjadi alternatif pengganti beef extract dalam media kultur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi tepung ikan kakap merah sebagai sumber nutrisi pengganti beef extract dalam media Nutrient Agar untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Penelitian dilaksanakan pada tanggal 5-27 Mei 2025 di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar. Sampel berupa ikan kakap merah diperoleh dari pasar Lelong Paotere, Makassar secara purposive sampling. Isolat bakteri didapatkan dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar. Metode yang digunakan adalah eksperimen laboratorik dengan membandingkan pertumbuhan bakteri pada media kontrol (Nutrient Agar standar) dan media alternatif (tepung ikan kakap merah) dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri mampu tumbuh pada semua variasi media alternatif, dengan jumlah koloni tertinggi pada konsentrasi 3%. Morfologi koloni menyerupai media kontrol, yaitu bulat kecil hingga sedang, permukaan halus, mengkilap, dan berwarna putih. Kesimpulannya, tepung ikan kakap merah berpotensi digunakan sebagai alternatif pengganti beef extract dalam media Nutrient Agar.*

Kata kunci : *Beef extract, Ikan Kakap Merah, Nutrient Agar, Media Alternatif, Staphylococcus Aureus*

PENDAHULUAN

Media merupakan substrat yang mengandung campuran nutrisi esensial untuk pertumbuhan mikroorganisme. Media berfungsi sebagai tempat berkembang biak dan digunakan untuk berbagai tujuan dalam mikrobiologi, termasuk isolasi, pengujian karakteristik fisiologis dan perbanyakan jumlah mikroba. Untuk mendukung pertumbuhan secara optimal, media harus memiliki kondisi lingkungan yang cocok untuk mikroorganisme, termasuk kadar air yang cukup untuk metabolisme, suhu yang sesuai, serta ketersediaan sumber karbon, mineral, vitamin, gas, kondisi isotonic, dan pH yang netral. Selain itu, media harus menyediakan sumber energi seperti gula, vitamin, dan ion organik yang penting bagi metabolisme mikroba (Najmah dkk, 2024).

Berdasarkan bentuk fisiknya, media dibagi tiga jenis: media cair, media padat, dan media setengah padat. Media cair tidak mengandung bahan pemat, sehingga ideal digunakan untuk memperbanyak mikroorganisme dalam bentuk suspensi yang seragam. Contoh media cair meliputi Nutrient Broth (NB) dan Brain Heart Infusion (BHI) Broth. Sementara itu, media padat mengandung agen pemat seperti agar, yang memungkinkan mikroorganisme membentuk koloni di permukaan media. Contohnya termasuk Nutrient Agar (NA), MacConkey Agar, dan Blood Agar. Adapun media setengah padat memiliki kadar agar lebih rendah dibandingkan media padat, dan salah satu contohnya adalah Sulfide Indole Motility (SIM) Medium.

Berdasarkan komposisi bahan pembentuknya, media dapat digolongkan menjadi tiga jenis. Adapun jenisnya adalah media sintetik, media semi-sintetik, dan media alami. Media sintetik memiliki komposisi kimia yang seluruh komponennya diketahui secara pasti, dan biasanya digunakan dalam studi biokimia atau mikrobiologi molekuler. Media semi-sintetik tersusun dari bahan alami dan dikombinasikan dengan zat kimia tertentu guna mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Contoh dari media ini antara lain Sabouraud Dextrose Agar dan Nutrient Agar. Sementara itu, media alami

berasal dari ekstrak biologis dan sering digunakan untuk mikroorganisme yang memerlukan nutrisi kompleks. Contoh media alami meliputi Brain Heart Infusion Agar dan kaldu infus hati.

Berdasarkan fungsinya, media dibagi menjadi beberapa jenis, yaitu media basal, selektif, diferensial, non-selektif, dan media diperkaya. Media basal berfungsi menyediakan nutrisi dasar yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme secara umum, misalnya Nutrient Agar (NA) dan Tryptic Soy Agar (TSA). Media selektif dirancang untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu sekaligus mendukung pertumbuhan jenis lainnya, seperti pada MacConkey Agar dan Mannitol Salt Agar. Media diferensial digunakan untuk membedakan jenis mikroorganisme berdasarkan reaksi biokimia tertentu yang terlihat secara visual, contohnya Blood Agar dan Eosin Methylene Blue Agar. Media non-selektif memungkinkan pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme tanpa membatasi jenis tertentu, salah satunya adalah Blood Agar. Media diperkaya ditambahkan dengan nutrisi khusus untuk mendukung mikroorganisme yang memiliki kebutuhan nutrisi kompleks, seperti pada kaldu selenit.

Salah satu media yang umum digunakan dalam berbagai kegiatan mikrobiologi adalah Nutrient Agar (NA). Berdasarkan klasifikasinya, NA termasuk dalam media padat, semi-sintetik, basal, dan non-selektif karena mampu menyediakan nutrisi dasar yang mendukung pertumbuhan beragam jenis mikroorganisme tanpa seleksi khusus. Nutrient Agar adalah salah satu media pertumbuhan yang paling sering digunakan untuk menumbuhkan berbagai jenis bakteri, baik Gram negatif maupun Gram positif seperti *Staphylococcus sp.* Media ini berbentuk padat dan tersusun dari campuran bahan alami serta senyawa kimia. Komposisinya mencakup ekstrak daging (beef extract), pepton, agar, dan natrium klorida (NaCl). Setiap komponen memiliki fungsi spesifik yang menunjang pertumbuhan mikroorganisme. Ekstrak daging dan pepton bertindak sebagai sumber utama protein, nitrogen, vitamin, dan karbohidrat, yang penting bagi aktivitas

metabolisme mikroba. NaCl berfungsi untuk menjaga keseimbangan tekanan osmotik dalam media agar kondisi lingkungan tetap stabil bagi sel mikroorganisme. Sementara itu, agar digunakan sebagai zat pematid karena kemampuannya untuk membentuk gel saat suhu turun, serta kandungan galaktannya yang tidak mudah dicerna oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengganggu pertumbuhan (Fatmariza dkk, 2019).

Salah satu komponen utama dalam Nutrient Agar adalah ekstrak daging (*beef extract*), yang berperan sebagai sumber nutrisi penting bagi mikroorganisme. Ekstrak ini umumnya diperoleh dari jaringan daging sapi yang bersih dan lunak, yang kemudian diolah menjadi pasta kaya akan zat-zat yang larut dalam air. Kandungan dalam ekstrak daging meliputi berbagai senyawa seperti asam amino, peptida, vitamin, dan mineral yang mendukung pertumbuhan serta aktivitas metabolisme mikroorganisme selama proses inkubasi. (Sarudji, 2005). *Beef extract* diperoleh dari daging sapi yang telah melalui proses hidrolisis enzimatis atau asam untuk mengekstrak kandungan vitamin, protein, dan mineral yang diperlukan dalam pertumbuhan mikroorganisme. Selain itu, *beef extract* tidak hanya berasal dari daging sapi saja, tetapi juga dapat diperoleh dari berbagai sumber protein lainnya yang dapat digunakan sebagai alternatif media pertumbuhan mikroorganisme pengganti *beef extract*.

Sejumlah penelitian, termasuk studi yang dilakukan oleh Thawil dkk (2020). dalam "*Studi Literatur: Pertumbuhan Bakteri pada Media Alternatif Pengganti Nutrient Agar*", telah mencoba menggantikan sumber protein konvensional dengan alternatif alami, baik yang bersumber dari protein nabati seperti limbah cair tahu, kacang hijau, koro benguk, taughe, dan kacang kedelai, maupun dari sumber protein hewani seperti daging sapi, limbah ikan cakalang, ikan teri, dan berbagai jenis ikan dengan kandungan protein tinggi.

Penggunaan ekstrak daging sapi

dalam media kultur mikroba memiliki beberapa keuntungan, antara lain kandungan asam amino, peptida, vitamin, dan mineral esensial yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme secara optimal. Namun, ekstrak daging sapi juga memiliki beberapa keterbatasan, seperti biaya produksi yang tinggi, karena proses pembuatannya memerlukan bahan baku berkualitas serta prosedur sterilisasi yang ketat. Harga ekstrak daging sapi bisa mencapai Rp 500.000 hingga Rp 1.500.000 per liter, sehingga alternatif lain yang lebih ekonomis dan berkelanjutan perlu dikembangkan (Thawil dkk, 2020).

Beberapa penelitian sebelumnya telah berupaya menggantikan *beef extract* dengan berbagai sumber protein alternatif yang lebih terjangkau dan ramah lingkungan. Adapun sumber protein yang menjanjikan adalah ikan, karena memiliki kandungan protein tinggi dan mudah diperoleh. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa ikan seperti cakalang dan teri jengki dapat digunakan sebagai media alternatif untuk menumbuhkan bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Seperti, penelitian yang dilakukan oleh Asri dkk (2019) dalam "*Penggunaan Media Tepung Limbah Ikan Cakalang untuk Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*" menemukan bahwa tepung limbah cakalang dengan konsentrasi 4% merupakan formulasi optimal untuk pertumbuhan kedua bakteri tersebut. Hal ini sejalan dengan penelitian Novitasari dkk (2019) dalam "*Potensi Ikan Teri Jengki (Stolephorus indicus) sebagai Bahan Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*", menunjukkan bahwa ikan teri jengki juga dapat digunakan sebagai media pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Selain bakteri, beberapa bahan tersebut juga berpotensi digunakan untuk mendukung pertumbuhan jamur.

Meskipun berbagai penelitian telah mengeksplorasi alternatif pengganti *beef extract*, potensi penggunaan media berbasis ikan masih belum sepenuhnya dikaji, khususnya dengan jenis ikan yang berbeda. Salah satu bahan alami yang berpotensi sebagai alternatif *beef extract* adalah kaldu ikan kakap merah (*Lutjanus campechanus*),

yang memiliki kandungan asam amino esensial, protein tinggi, vitamin, dan mineral yang sangat penting bagi pertumbuhan mikroorganisme.

Penelitian ini berfokus pada uji potensi kaldu ikan kakap merah sebagai pengganti beef extract dalam media Nutrient Agar untuk mendukung pertumbuhan *Staphylococcus sp.* Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam bidang mikrobiologi, sekaligus mendukung pengembangan media pertumbuhan yang lebih berkelanjutan, ekonomis, dan ramah lingkungan. Dengan demikian, pemanfaatan kaldu ikan kakap merah dapat menjadi solusi inovatif dalam mengurangi ketergantungan terhadap beef ekstrak serta meningkatkan efisiensi dalam penelitian mikrobiologi.

Berdasarkan hal tersebut, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan media alternatif berbasis ikan kakap merah sebagai pengganti *beef extract* dalam Nutrient Agar untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratorik dengan analisis deksriptif, yang bertujuan untuk mengetahui ikan kakap merah (*Lutjanus campechanus*) dapat menggantikan *beef extract* sebagai sumber nutrisi dalam media Nutrient Agar untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar pada bulan Mei 2025.

Jumlah dan cara pengambilan subjek atau bahan dan alat

Populasi dalam penelitian adalah Ikan Kakap merah yang diperjualbelikan di pasar Lelong Paotere. Sampel yang digunakan adalah daging ikan kakap merah yang kemudian diolah untuk menghasilkan tepung dan dicampurkan dengan bahan-bahan tambahan lain. Bakteri *Staphylococcus aureus* digunakan sebagai

mikroorganisme uji untuk melihat bakteri ini dapat tumbuh pada media yang mengandung ikan kakap merah. Pengulangan yang dilakukan pada tiap sampel sebanyak 3 kali (triplo) sehingga sampel yang akan dibuat adalah 12 sampel yang akan dikerjakan.

Alat yang digunakan adalah APD lengkap (jas lab, handscoon, masker), neraca analitik, sendok tanduk, erlenmeyer, batang pengaduk pipet tetes, corong, kaki tiga, ose, kawat kasa, lampu spiritus, mikropipet rak tabung, tabung reaksi, cawan petri, pipet pasteur, autoklaf, inkubator, batang L, oven, karet, objek gelas dan korek api.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kapas kering, kertas, aluminium foil, kertas saring, aquades, NA (Nutrient Agar), biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus*, Ikan kakap merah (*Lutjanus Campechanus*), tissue, carbol gentian violet, lugol, alkohol 96%, safranin 0,25%, tip biru dan oil imersi.

Langkah-Langkah Penelitian

1. Pembuatan tepung ikan kakap merah

Pembuatan tepung ikan kakap merah dilakukan dengan cara daging ikan kakap merah difillet, lalu dibersihkan, dan dicuci hingga bersih. Setelah itu daging dikukus selama 15–30 menit, kemudian dicabik-cabik dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C hingga teksturnya kering. Daging kering tersebut selanjutnya dihancurkan menggunakan blender, lalu diayak dengan ukuran 80 mesh agar dihasilkan tepung ikan kakap merah yang halus dan siap digunakan sebagai bahan media alternatif (Novitasari dkk., 2019)

2. Pembuatan media alternatif dan media kontrol

Tepung ikan kakap merah ditimbang sesuai variasi konsentrasi perlakuan, yaitu 0,6 gram untuk konsentrasi 1%, 1,8 gram untuk konsentrasi 3%, dan 3 gram untuk konsentrasi 5%. Tepung dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan aquades hingga mencapai total volume 60 ml untuk masing-

masing konsentrasi lalu disaring. Setelah disaring, ditambahkan pepton sebanyak 0,3 gram, NaCl sebanyak 0,3 gram, dan bacto agar sebanyak 0,9 gram ke dalam masing-masing variasi konsentrasi kemudian dihomogenkan lalu dipanaskan.

Nutrient Agar (NA) sebagai media kontrol ditimbang sebanyak 2,24 gram, lalu dilarutkan dengan aquades sebanyak 80 ml dan dipanaskan hingga homogen. Setelah homogen, semua media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15–20 menit. Setelah proses sterilisasi selesai, media dituang ke dalam cawan petri steril masing-masing 20 ml per cawan, kemudian dibiarkan mengeras pada suhu ruang sebelum dilakukan inokulasi bakteri.

3. Inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada media

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

4. Pengamatan dan perhitungan koloni bakteri

Pengamatan makroskopis dilakukan terhadap koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media, meliputi bentuk, warna, morfologi koloni, perhitungan koloni, dan pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram dengan membuat

sediaan bakteri pada kaca objek, dikeringkan, lalu diberi pewarna kristal violet, lugol, alkohol 96%, dan safranin secara berurutan. Sediaan kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000×.

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*, serta uji homogenitas varians menggunakan *Levene Test* untuk mengetahui apakah varians antar kelompok adalah homogen ($p > 0,05$). Jika kedua asumsi tersebut terpenuhi, maka analisis dilanjutkan dengan ANOVA. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji lanjut (Post Hoc) menggunakan *Tukey's Honestly Significant Difference (Tukey HSD)* untuk mengetahui kelompok mana yang menunjukkan perbedaan paling efektif dalam mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

HASIL

Berdasarkan Tabel 1 mengenai karakteristik pertumbuhan *staphylococcus* pada media alternatif ikan kakap merah dan media kontrol nutrient agar diketahui bahwa koloni yang tumbuh pada media perlakuan (menggunakan ekstrak ikan kakap merah) memiliki morfologi makroskopis yang seragam, yaitu berbentuk bulat kecil, berwarna putih, serta permukaan tampak halus dan mengkilap. Karakteristik ini terlihat konsisten pada media dengan konsentrasi 1%, 3%, maupun 5%. Sementara itu, koloni pada media kontrol (menggunakan beef extract) juga menunjukkan morfologi yang serupa, tanpa perbedaan mencolok dalam bentuk, warna, maupun tekstur permukaan.

Hasil pengamatan mikroskopis melalui pewarnaan Gram menunjukkan bahwa semua isolat yang tumbuh pada keempat jenis media bersifat Gram positif

dan berbentuk kokus yang tersusun bergerombol. Karakteristik ini sesuai dengan karakteristik khas dari genus *Staphylococcus*, yang dikenal sebagai bakteri Gram positif berbentuk bulat dan cenderung membentuk kelompok menyerupai buah anggur.

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa jumlah koloni *Staphylococcus sp.* tertinggi diperoleh pada media dengan konsentrasi 3% tepung ikan kakap merah, yaitu dengan total koloni sebanyak 5722 dan rata-rata 1907×10^4 CFU/mL. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 3% merupakan kondisi optimal dalam menyediakan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri.

Pada media dengan konsentrasi 1%, jumlah koloni yang dihasilkan sebanyak 3588 dengan rata-rata 1196×10^4 CFU/mL. Meskipun tidak setinggi konsentrasi 3%, konsentrasi ini tetap mampu menunjang pertumbuhan bakteri dengan cukup baik.

Sebaliknya, media dengan konsentrasi 5% menghasilkan pertumbuhan koloni yang lebih rendah, yaitu total 4568 koloni dengan rata-rata 1523×10^4 CFU/mL. Penurunan ini diduga terjadi karena konsentrasi nutrisi yang terlalu tinggi dapat menimbulkan stres osmotik atau menghasilkan senyawa toksik selama inkubasi, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri.

Sementara itu, media kontrol (menggunakan *beef extract*) menunjukkan total koloni sebanyak 3442 dengan rata-rata 1147×10^4 CFU/mL. Hasil ini lebih rendah dibandingkan semua konsentrasi tepung ikan kakap merah (1%, 3%, dan 5%), yang berarti tepung ikan kakap merah dapat berfungsi sebagai pengganti *beef extract*, dengan efektivitas terbaik pada konsentrasi 3%.

Berdasarkan tabel 3 diperoleh hasil uji normalitas data jumlah koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* pada kontrol dan media alternatif berbagai konsentrasi (1%, 3% dan 5%) memiliki nilai sig 0,137 ($p > 0,05$) yang berarti H_0 diterima, sehingga disimpulkan data berdistribusi normal. Sedangkan hasil uji homogenitas diperoleh nilai sig 0,567 ($p > 0,05$) yang berarti H_0 diterima dan data diaumsikan homogen.

Oleh karena data berdistribusi normal dan asumsi homogenitas terpenuhi, maka analisis variasi jumlah koloni yang tumbuh dalam kelompok (kontrol dan media alternatif berbagai konsentrasi) dapat dilanjutkan menggunakan untuk uji parametrik yaitu uji ANOVA.

Berdasarkan tabel 4 Uji ANOVA (*Analysis of Variance*) digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata antara lebih dari dua kelompok dalam hal ini kontrol dan berbagai konsentrasi media alternatif (1%, 3% dan 5%) terhadap jumlah koloni Bakteri *Staphylococcus aureus*. Nilai p-value (0,000) lebih kecil dari 0,05, maka H_0 ditolak, yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni antara setidaknya dua kelompok konsentrasi. Sehingga perlu dilakukan uji lanjutan *Post Hoc Tukey HSD (Tukey's Honestly Significant Difference)* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara spesifik.

Berdasarkan tabel 5 hasil uji *Post Hoc Tukey HSD* perbandingan kontrol dengan media alternatif konsentrasi 1% diperoleh nilai sig. 0,868 ($p > 0,05$), bahwa H_0 diterima, sehingga disimpulkan tidak terdapat perbedaan rata-rata jumlah koloni yang signifikan secara statistik dibandingkan dengan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol. Sedangkan hasil uji *Post Hoc Tukey HSD* perbandingan kontrol dengan media alternatif konsentrasi 3% (sig. 0,000) dan 5% (sig. 0,002) diperoleh nilai sig. $p < 0,05$, bahwa H_0 ditolak dan H_a diterima sehingga disimpulkan terdapat perbedaan rata-rata jumlah koloni yang signifikan secara statistik dibandingkan dengan rata-rata jumlah koloni pada kontrol.

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan studi eksperimental yang bertujuan untuk mengevaluasi potensi ekstrak ikan kakap merah (*Lutjanus campechanus*) sebagai bahan alternatif pengganti *beef extract* dalam media Nutrient Agar (NA) untuk mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Penggunaan ikan kakap merah

dipertimbangkan karena merupakan sumber protein hewani lokal yang mudah diperoleh serta berpotensi menekan biaya produksi media mikrobiologi, yang selama ini bergantung pada komponen impor seperti *beef extract*. Nutrient Agar sendiri merupakan media umum yang digunakan dalam laboratorium mikrobiologi untuk mendukung pertumbuhan bakteri non-fastidious secara luas. Penelitian ini bersifat pendahuluan, hanya menggambarkan tren rata-rata jumlah koloni secara deskriptif, dan belum melakukan pengujian signifikansi statistik lebih lanjut.

Proses pengujian dilakukan dengan metode inokulasi sebar, sebagaimana digunakan pula oleh Damayanti (2020) karena teknik ini memungkinkan distribusi bakteri secara merata di permukaan media, sehingga koloni dapat tumbuh terpisah dan mudah dihitung. Sebelum proses inokulasi, isolat bakteri yang telah tumbuh pada media alternatif dipindahkan ke dalam larutan NaCl fisiologis (0,9%) sebanyak 9 mL, kemudian disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 yang mengandung sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL untuk memastikan jumlah bakteri seragam pada setiap replikasi. Setelah proses inkubasi, dilakukan pengamatan terhadap morfologi makroskopis dan mikroskopis koloni, serta perhitungan jumlah koloni pada setiap perlakuan. Sebelum dilakukan inokulasi, suspensi bakteri disiapkan dengan cara memasukkan isolat dari koloni *Staphylococcus aureus*, yang telah tumbuh pada media alternatif ke dalam larutan NaCl steril. Suspensi tersebut kemudian disesuaikan dengan standar McFarland untuk menyesuaikan kekeruhan. Pengenceran dilakukan secara bertahap, dengan menggunakan pengenceran hingga 10^4 .

Pengamatan makroskopik terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa jumlah koloni yang tumbuh pada media alternatif berbasis tepung ikan kakap merah bervariasi berdasarkan konsentrasi media. Pada konsentrasi 1%, rata-rata jumlah koloni mencapai 1196×10^4 CFU/mL, pada konsentrasi 3% mencapai 1907×10^4 CFU/mL, sedangkan pada konsentrasi 5% menurun menjadi 1523

$\times 10^4$ CFU/mL. Sementara itu, jumlah koloni pada media kontrol Nutrient Agar standar tercatat sebesar 1147×10^4 CFU/mL. Berdasarkan hasil ini, terlihat bahwa penggunaan tepung ikan kakap merah sebagai pengganti *beef extract* dalam media Nutrient Agar tetap mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, bahkan pada konsentrasi terendah yaitu 1% mampu menghasilkan jumlah koloni lebih tinggi dibandingkan media kontrol.

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,137 ($p > 0,05$), yang berarti data berdistribusi normal. Uji homogenitas menggunakan *Levene Test* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,567 ($p > 0,05$), sehingga varians antar kelompok dapat dianggap homogen. Dengan demikian, kedua asumsi uji parametrik terpenuhi, sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan jumlah koloni yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p = 0,000$). Uji lanjut *Post Hoc Tukey HSD* menunjukkan bahwa perlakuan dengan konsentrasi 3% ($p = 0,000$) dan 5% ($p = 0,002$) berbeda signifikan dari kontrol, sedangkan konsentrasi 1% ($p = 0,868$) tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 3% merupakan yang paling efektif dalam mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan perlakuan lainnya maupun kontrol.

Perbedaan jumlah koloni ini kemungkinan besar berkaitan dengan variasi kandungan nutrisi yang terdapat dalam tepung ikan kakap merah, terutama sumber protein dan nitrogen. Nutrient Agar standar mengandung *beef extract* sebanyak 3 g/L, pepton 5 g/L, NaCl sebanyak 5 g/L, dan Agar sebanyak 15 g/L yang telah diketahui pasti kandungannya. Komposisi ini mendukung pertumbuhan bakteri secara stabil. Sebaliknya, komposisi nutrisi dalam tepung ikan kakap merah belum terstandarisasi, meskipun diketahui mengandung sekitar 20,45% protein, 1,37% lemak, serta mineral penting seperti fosfor, kalsium, dan zat besi. Kandungan nutrisi ini secara umum dapat mencukupi kebutuhan

pertumbuhan bakteri, namun komposisinya mungkin bervariasi setiap kali media dibuat, sehingga dapat memengaruhi kestabilan pertumbuhan bakteri.

Selain faktor nutrisi, variasi jumlah koloni juga dapat dipengaruhi oleh aspek teknis, seperti teknik inokulasi yang kurang tepat, distribusi inokulum yang tidak merata, atau proses homogenisasi tepung ikan kakap merah yang belum optimal. Temuan perbedaan jumlah koloni, termasuk penurunan pada konsentrasi 5%, sejalan dengan penelitian Asri dkk., (2019), yang melaporkan penurunan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi tertinggi media berbasis tepung limbah ikan cakalang, meskipun media tersebut tetap mendukung pertumbuhan. Variasi ini diduga berkaitan dengan kandungan protein dan asam amino yang belum terstandarisasi dalam bahan alami, sehingga pada konsentrasi tertentu dapat menimbulkan ketidakseimbangan nutrisi atau tekanan osmotik yang kurang sesuai bagi bakteri.

Selain itu, konsentrasi tepung ikan kakap merah yang tinggi, yaitu 5%, diduga meningkatkan kandungan protein dan nitrogen secara berlebihan, yang pada akhirnya justru menghambat pertumbuhan bakteri. Wulan dkk (2011) menyatakan bahwa jika jumlah nitrogen pada media terlalu besar, dapat menyebabkan terbentuknya NH_3 (amonia) dalam jumlah berlebih, sehingga menaikkan pH media dan mengganggu pertumbuhan bakteri. Hal ini sejalan dengan pendapat Purwitasari dkk (2004) yang menjelaskan bahwa nutrisi dalam media, apabila jumlahnya tidak seimbang atau disertai pH yang tidak sesuai akibat akumulasi senyawa metabolit toksik, dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Dengan demikian, kombinasi ketidakstandaran nutrisi, tingginya nitrogen, dan perubahan pH pada konsentrasi tertentu kemungkinan besar berkontribusi terhadap menurunnya jumlah koloni yang diamati.

Pengamatan makroskopik terhadap *Staphylococcus aureus* pada media berbasis tepung ikan kakap merah menunjukkan bahwa bentuk koloni di seluruh perlakuan relatif serupa dengan media Nutrient Agar kontrol. Koloni tampak berbentuk bulat

kecil, tersebar merata dalam jumlah banyak, permukaan halus, serta berwarna putih. Ukuran koloni secara umum tercatat kecil dan konsisten di semua konsentrasi, baik pada 1%, 3%, maupun 5%, serta pada kontrol, menunjukkan bahwa media alternatif tidak memengaruhi ukuran morfologi koloni. Keseragaman ini menegaskan bahwa tepung ikan kakap merah tetap mampu memenuhi kebutuhan dasar nutrisi untuk mendukung pembentukan struktur koloni *Staphylococcus aureus*.

Warna putih yang muncul pada semua media juga menegaskan kemampuan bakteri dalam membentuk pigmen karakteristiknya, tanpa adanya gangguan proses sintesis pigmen akibat penggantian sumber nutrisi. Hal ini sesuai dengan sifat *S. aureus* yang secara alami menghasilkan koloni berwarna putih krem hingga kuning pucat pada media kaya nutrisi, sehingga keberadaan tepung ikan kakap merah tidak memengaruhi ekspresi pigmennya.

Hasil pengamatan mikroskopis mendukung temuan ini, di mana seluruh isolat yang diamati setelah pewarnaan Gram menunjukkan sel berbentuk kokus, tersusun bergerombol menyerupai untaian anggur, serta berwarna ungu yang mengonfirmasi sifat Gram positifnya. Tidak terlihat adanya perbedaan morfologi sel antara media perlakuan dan kontrol, menunjukkan bahwa komponen nutrisi tepung ikan kakap merah tidak berpengaruh pada struktur dinding sel bakteri.

Kesamaan karakteristik koloni menegaskan bahwa meskipun *beef extract* diganti dengan tepung ikan kakap merah, bakteri tetap dapat tumbuh dengan ciri morfologi yang sama seperti pada media Nutrient Agar standar. Hal ini sejalan dengan penelitian Novitasari. (2019) yang menyatakan bahwa penggunaan tepung ikan cakalang sebagai pengganti *beef extract* masih mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan ciri koloni tetap serupa kontrol, meskipun sumber nutrisi berasal dari bahan alami.

Dengan demikian, tepung ikan kakap merah memiliki potensi sebagai sumber nutrisi alternatif dalam formulasi media mikrobiologi, karena mampu

mempertahankan ciri koloni dan struktur sel *Staphylococcus aureus*, serta dapat berkontribusi dalam menurunkan biaya pembuatan media dan memanfaatkan sumber protein lokal yang lebih ekonomis.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ikan kakap merah dapat dijadikan sebagai bahan alternatif pengganti beef extract dalam media Nutrient Agar untuk mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi media alternatif yang paling efektif berdasarkan perhitungan statistik adalah konsentrasi 3%. Secara makroskopis, koloni yang tumbuh pada media alternatif memiliki karakteristik yang serupa dengan media kontrol, yakni bulat, kecil, putih, dan tersebar merata.

SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menganalisis kandungan nutrisi tepung ikan kakap merah guna mengidentifikasi komponen utama pendukung pertumbuhan bakteri. Selain itu, perlu diuji konsentrasi di bawah 1% untuk mengetahui batas minimal yang efektif. Uji efektivitas media juga sebaiknya diperluas pada bakteri Gram positif dan Gram negatif lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

Asri, A., Sakinah, A., & Mauboy, R. S. (2019). "Penggunaan Media Tepung Limbah Ikan Cakalang Untuk

Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biotropikal Sains*, 16(3), 36–46.

Damayanti, N. W. E., Abadi, M. F., & Bintari, N. W. D. (2020). Perbedaan Jumlah Bakteriuri Pada Wanita Lanjut Usia Berdasarkan Kultur Mikrobiologi Menggunakan Teknik Cawan Tuang Dan Cawan Sebar. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 8(1), 1–4.

Fatmariza, M., Inayati, N., & Rohmi, R. (2019). Tingkat Kepadatan Media Nutrient Agar Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 4(2), 69–73.

Najmah, Asriyani, R., Tacik, I. E., Made, S. D. N., Krihariyani, S. D., Aini, & Parisihni, K. (2024). *Pengantar Mikrobiologi*. Jawa Tengah: Eureka Media Aksara,.

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), 1–15.

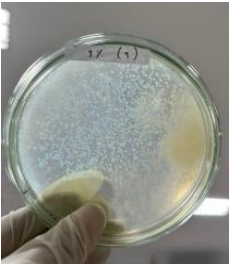
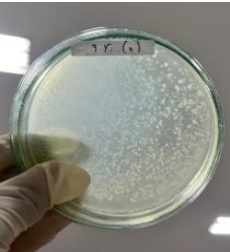
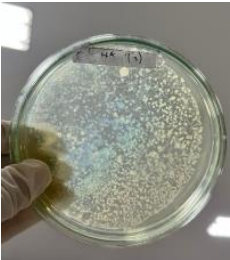
Purwitasari, E., Pangastuti, A., & Setyaningsih, R. (2004). Pengaruh media tumbuh terhadap kadar protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan protein sel tunggal. *Biotechnologi*, 1(2), 37–42.

Sarudji, S. (2005). Perbandingan Kuantitas dan Kualitas Ekstrak Daging Sapi antara yang Dibuat dengan Cara Pemanasan Perebusan dengan Pemanasan Bertekanan. *Media Kedokteran Hewan*, 21(1).

Thawil, D. A., Waluyo, H., SKM, S., & Novalina, D. (2020). Studi Literatur: Pertumbuhan Bakteri pada Media Alternatif Pengganti Nutrient Agar. Universitas Aisyiyah Yogyakarta.

Wulan, P., Gozan, M., Arby, B., & Achmad, B. (2011). Penentuan rasio optimum C: N: P sebagai nutrisi pada proses biodegradasi benzena-toluena dan scale up kolom bioregenerator. *Fakultas Teknik. Universitas Indonesia. Depok*.

Tabel 1 Hasil Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Media	Makroskopis				Mikroskopis
			Bentuk	Ukuran	Warna	
1	1% 	S	Bulat kecil, tersebar banyak	Kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
		D	Bulat kecil, tersebar banyak	Kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
		T	Bulat kecil, tersebar banyak	Kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
2	3% 	S	Bulat kecil, tersebar banyak	Kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
		D	Bulat kecil, tersebar banyak	Kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
		T	Bulat kecil, tersebar banyak	Kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
3	5% 	S	Bulat kecil, tersebar banyak	kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
		D	Bulat kecil, tersebar banyak	kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
		T	Bulat kecil, tersebar banyak	kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
4	Kontrol 	S	Bulat kecil, tersebar banyak	Kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
		D	Bulat kecil, tersebar banyak	Kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)
		T	Bulat kecil, tersebar banyak	Kecil	Putih	Gram Positif (kokus bergerombol)

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

Tabel 2 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Konsentrasi Media (%)	Jumlah Koloni/Replikasi			Σ	Rata-rata ($\times 10^4$ CFU/mL)
		S	D	T		
1	1	1254	1202	1132	3588	1196
2	3	1985	1823	1964	5722	1907
3	5	1572	1522	1474	4568	1523
4	Kontrol	1139	1050	1253	3442	1147

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

Sumber : Data primer 2025

Tabel 3 Uji Normalitas saphiro wilk dan Uji Homogenitas levene Media Alternatif pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

	Sig.	Interpretasi
Uji Normalitas Shapiro Wilk	0,137	$p > 0,05$; Signifikan
Uji Homogenitas Levene	0,567	$p > 0,05$; Signifikan

Tabel 4 Hasil Uji *Analysis Of Variance* Media Alternatif pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sumber Variasi	Sig.	Interpretasi
Kontrol		
Perlakuan (Variasi Konsentrasi)	0,000	$p < 0,05$; Signifikan

Tabel 5 Hasil Uji *Post Hoc Tukey HSD* Media Alternatif pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Kelompok yang dibandingkan	Sig.	Interpretasi
Kontrol		
Konsentrasi 1%	0,868	$p > 0,05$; Tidak Signifikan
Konsentrasi 3%	0,000	$p < 0,05$; Signifikan
Konsentrasi 5%	0,002	$p < 0,05$; Signifikan