

Campuran Infusa Singkong (*Manihot esculenta*), Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) Dan Ekstrak Ragi Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

M. Atik Martsiningsih¹, Fardhiasih Dwi Astuti², Menik Kasiyati¹
Suyana¹, Ullya Rahmawati¹, Muji Rahayu¹, Ajeng Puspa Aeni¹

1) Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta

2) Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Ahmad Dahlan.

Correspondence to: fardhiasih.dwiastuti@ikm.uad.ac.id.

ABSTRACT

Tanggal Submit:
6 Maret 2024

Tanggal Review:
7 Mei 2024

Tanggal Publish
Online:
30 Mei 2024

The composition of nutrients needed by bacteria varies greatly such as peptone, meat extract, and agar. Nutrient Agar is one of the media used as a bacterial culture that has a composition such as protein and carbohydrates in the form of meat extract and peptone that suits the needs of most bacteria. The carbohydrate content in cassava, protein in soybeans, and nitrogen sources in yeast extract can be combined into alternative media used as bacterial growth media to determine whether the alternative media combination of cassava carbohydrate source infuse, soybean infuse, and yeast extract can be used to grow *Staphylococcus aureus* bacteria. This research is a pure experimental study with Post Test-Only Control Design research design. The mean growth in the number of colonies of *Staphylococcus aureus* bacteria on alternative media was $78,25 \times 10^4$ CFU/ml and NA media was 94.19×10^4 CFU/ml with a mean difference of 15.94×10^4 CFU/ml or 16.92%. The mean growth diameter of the number of colonies of *Staphylococcus aureus* bacteria on alternative media was 2.63×10^4 CFU/ml and NA media was 2.66×10^4 CFU/ml with a mean difference of 0.03×10^4 CFU/ml or 1.12%. The percentage of effectiveness of *Staphylococcus aureus* bacterial growth is 83.07% or moderately effective and the percentage of effectiveness of *Staphylococcus aureus* bacterial proliferation is 98.87% or effective. Alternative media mixture of cassava infuse (*Manihot esculenta crantz*), soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) and yeast extract can be used to grow *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Cassava, Soybean, Yeast extract, Alternative media

PENDAHULUAN

Media kultur merupakan tempat pertumbuhan mikroorganisme dimana terkandung nutrisi yang dibutuhkan untuk pemenuhan makanannya (Arum and Wahyudi, 2022). Media *Nutrient Agar*

(NA) merupakan media berupa bubuk berwarna putih kekuningan yang akan memadat seperti agar (Atlas, 2010). Zat yang terkandung dalam media NA diantaranya adalah pepton dan ekstrak daging sapi. Pepton digunakan sebagai

sumber nitrogen utama dalam pertumbuhan mikroorganisme (Atmanto, Asri and Kadir, 2022). Sedangkan ekstrak daging sapi sebagai sumber karbon-organik, vitamin-organik, nitrogen-organik, dan garam anorganik pada media NA sebagai nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme (Bonnet *et al.*, 2020).

Singkong adalah salah satu hasil pertanian pangan yang ketersediaannya sangat banyak di Indonesia. Bahan pangan ini biasa digunakan sebagai pengganti nasi oleh sebagian orang untuk pemenuhan sumber karbohidrat. Kacang kedelai merupakan jenis kacang-kacangan yang memiliki sumber protein, lemak, dan kaya akan vitamin A, E, K, dan B serta mineral K, Fe, Zn, dan P (Kementrian Kesehatan RI, 2020) Kadar protein pada kacang kedelai sangat tinggi mencapai 40% dibandingkan kacang-kacangan lain yang hanya berkisar 20-25%. Ekstrak ragi merupakan sumber nitrogen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam pertumbuhan sel, dan pemeliharaan kemampuan sel. Penambahan ekstrak ragi sebagai nutrisi pada media alternatif dapat mempercepat laju pertumbuhan bakteri karena glukosa mampu dipecah oleh ragi menjadi molekul yang lebih sederhana dan bakteri dapat memperoleh nutrisi yang cukup, sehingga sel bakteri dapat tumbuh lebih cepat (Atmodjo *et al.*, 2023).

Kondisi lain juga menjadi perhatian untuk menumbuhkan bakteri, seperti pH, suhu, dan kebutuhan oksigen. Penelitian sebelumnya formula, infusa kacang kedelai dan ekstrak ragi sangat efektif digunakan sebagai media pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri. (Fachraniah, Fardiaz and Idiyanti, 2002). Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi media alternatif infusa singkong (*manihot esculenta*), kacang kedelai (*glycine max (L.) merrill*) dan ekstrak ragi sebagai media pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan rancangan eksperimen murni (*True Eksperimental Design*) dengan desain penelitian yang digunakan adalah *Post Test-Only Control Design*. Penelitian ini menggunakan subjek berupa bakteri Gram Positif *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Yogyakarta yang sebelumnya sudah dibiakkan di media *Blood Agar Plate* dan kemudian dibuat suspensi bakteri hingga kepadatan suspensi 1×10^4 CFU/ml. Bahan lain terdiri dari media alternative berupa infusa singkong, infusa kacang kedelai, ekstrak ragi, kaldu daging, gula, agar, dan media kontrol yaitu *Nutrient Agar* dan NaCl 0,85%. Bahan yang digunakan untuk

pembuatan infusa sebelumnya dipilih dengan kualitas terbaik dan kemudian diidentifikasi dengan uji determinasi di Departemen Biologi Farmasi Unit II Universitas Gadjah Mada. Pembuatan formula media alternatif seperti infusa singkong dan infusa kacang kedelai dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

Koloni murni bakteri *Staphylococcus aureus* dibiakkan pada media BAP selama 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri uji yang tumbuh setelah masa inkubasi kemudian dibuat suspensi hingga tingkat kekeruhan sama dengan standard *Mc Farland* 0,5. Suspensi kemudian dipipet 50 µl pada media alternatif dan media kontrol NA kemudian tunggu hingga mengering setelahnya oleskan merata pada seluruh permukaan media dengan menggunakan teknik lempeng sebar lalu inkubasi media pada suhu 37°C selama 48 jam. Pemilihan waktu inkubasi 48 jam dikarenakan pada 24 jam pertama koloni bakteri yang tumbuh pada media alternatif maupun NA sebagai kontrol masih belum dapat diidentifikasi secara makroskopis. Kemudian koloni bakteri yang tumbuh pada media alternatif dan media NA dihitung jumlah koloni dan diukur diameter koloni menggunakan jangka sorong. Data yang sudah diperoleh kemudian diuji dengan uji T test untuk

mengetahui ada tidaknya perbedaan pertumbuhan dan perkebangbiakan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif dan media kontrol NA.

HASIL PENELITIAN

Pengamatan morfologi koloni, perhitungan jumlah koloni dan diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* setelah waktu inkubasi 2x24 jam pada suhu 37°C. Dapat dilihat pada Gambar 1.a. Sebelum dilakukan penanaman pada media alternatif dan media NA koloni bakteri *Staphylococcus aureus* diuji biokimia terlebih dahulu sebagai uji konfirmasi bahwa secara sifat fisiologis koloni bakteri yang digunakan adalah koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil uji ditunjukkan hasil uji biokimia pada koloni bakteri yang digunakan sebagai subjek penelitian yaitu tumbuh bakteri *Staphylococcus aureus* dengan karakteristik β-Hemolisis(a); katalase (+), (b); koagulase (+) (c) dan DNase (+) (d). (Gambar 1, a,b,c,d).

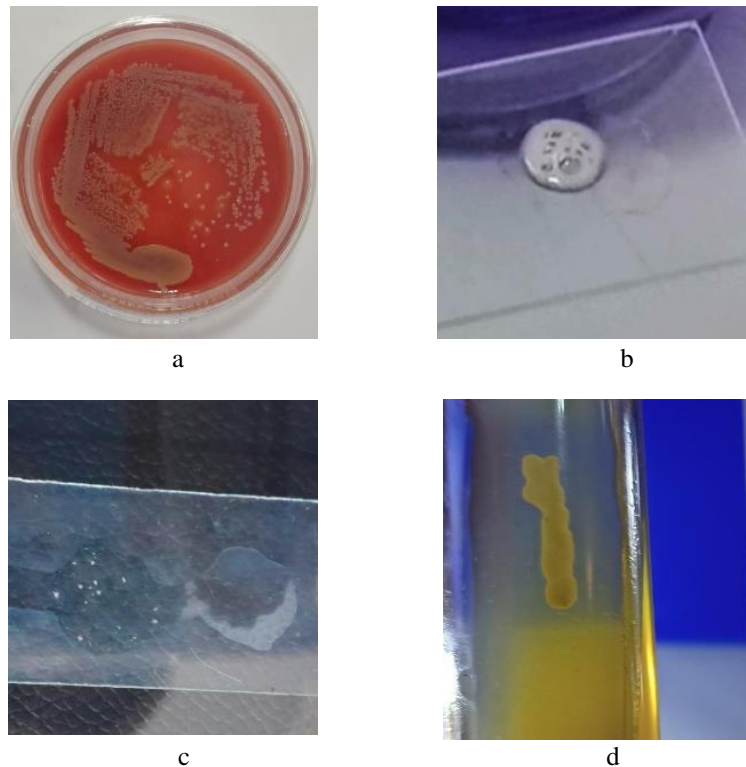
Bakteri *Staphylococcus aureus* ditumbuhkan pada media alternatif dan NA kemudian dilakukan pengamatan dengan membandingkan morfologi koloni secara makroskopis dan mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* pada media eksperimen dan media kontrol. Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada

media alternatif dan *Nutrient Agar* terlihat pada Gambar 2 a dan b.

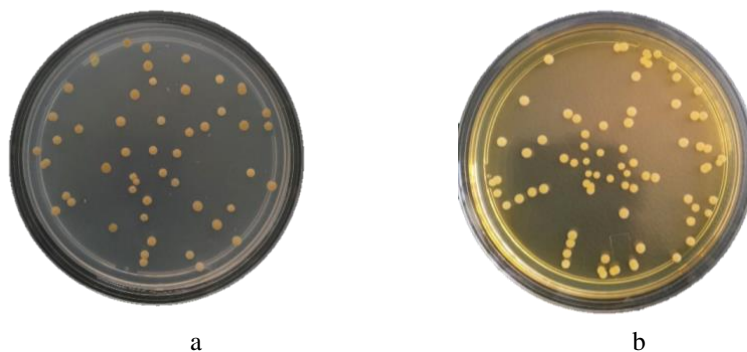
Pengamatan secara mikroskopis morfologi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara pewarnaan Gram dan terlihat karakteristik yang sama yaitu bakteri kokus Gram positif dengan formasi

bergerombol seperti anggur ditunjukkan dari Gambar 3.

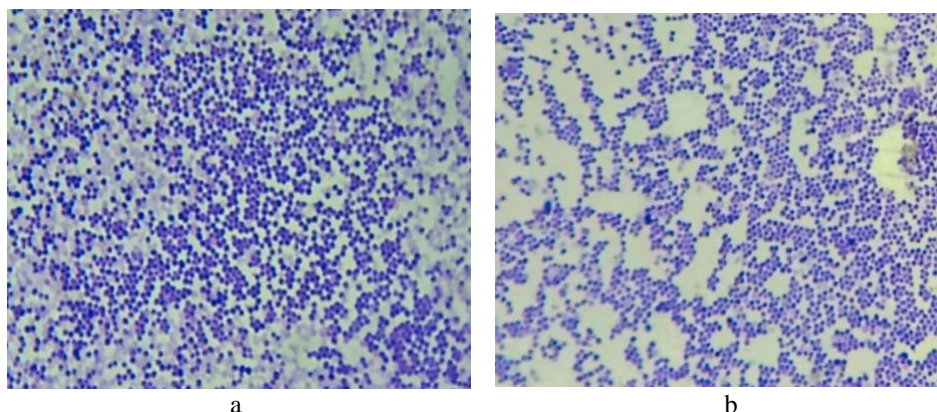
Hasil rerata jumlah koloni dan diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh di media alternatif dan media NA disajikan dalam diagram batang yang ditunjukkan pada Gambar 4.



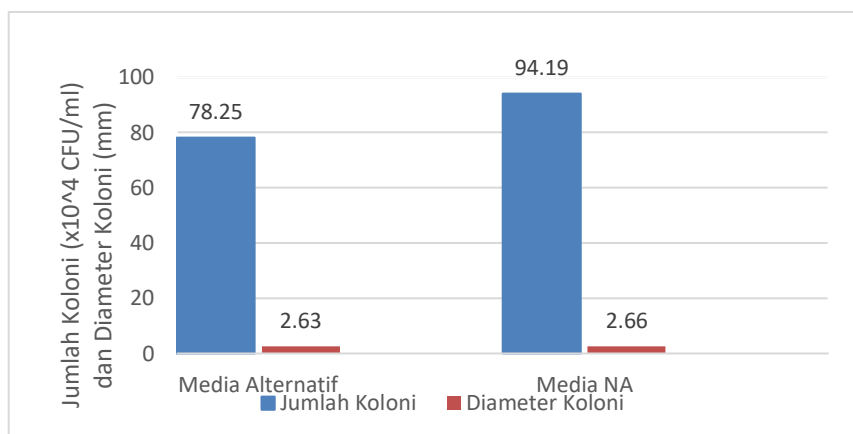
Gambar 1. Uji Biokimia Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus*: a. Hemolisis b. Katalase c. Koagulase, d. DNase



Gambar 2. Hasil Pertumbuhan Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* pada media a. Alternatif b. *Nutrient Agar*



Gambar 3. Hasil Pengamatan Mikroskopis Morfologi Sel Bakteri *Staphylococcus aureus* pada media:
a. Alternatif b. *Nutrient Agar*



Gambar 4. Diagram Perbandingan Jumlah Koloni dan Diameter Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media Alternatif dan Nutrien Agar.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Rerata Jumlah Koloni dan Diameter Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* pada media Alternatif dan Nutrien Agar

Pengulan gan	Jumlah Koloni (x10 ⁴ CFU/ml)		t test p- value	Diameter Koloni (mm)		t test p-value
	Media Alternatif	Media NA		Media Alternatif	Media NA	
Hasil Rerata	1252 78,25	1507 94,19	<0,001	42,15 2,63	42,53 2,66	0.518

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui terdapat perbedaan rata rata jumlah koloni bakteri pada media alternatif dan *nutrient agar* dengan p-value <0,001 menunjukkan adanya

perbedaan jumlah koloni yang tumbuh pada media alternatif dan media NA. Hasil pengukuran diameter koloni didapatkan nilai p-value >0,05, hal ini menunjukkan tidak adanya perbedaan

rerata diameter koloni bakteri yang ditanam pada media alternatif dan media nutrient agar.

PEMBAHASAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* diidentifikasi secara mikroskopis dan makroskopis untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan secara karakteristik fisiologis merupakan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji biokimia yang didapatkan adalah koloni bakteri kokus Gram positif, β -hemolisis, koagulase (+), katalase (+), dan DNase (+). Hasil penanaman *Staphylococcus aureus* pada media alternatif setelah diinkubasi selama 24 jam didapatkan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada seluruh media menunjukkan bentuk bulat, elevasi cembung, dan konsistensi halus. Diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif tidak berbeda jauh dengan diameter koloni yang ditanam pada media NA. Pada inkubasi 24 jam warna koloni mengalami perubahan menjadi kuning emas pada media NA. Kemudian pada inkubasi 48 jam pada kedua media warna koloni berubah menjadi warna kuning emas, diameter membesar, elevasi cembung, konsistensi halus, ukuran sedang dan permukaan mengkilap halus. Perbedaan nutrisi yang terkandung pada media alternatif dan media NA

menyebabkan bakteri membutuhkan waktu untuk beradaptasi pada media baru yang menyebabkan fase pertumbuhan pada media alternatif lebih lambat (Arum and Wahyudi, 2022). Berbagai bahan yang mengandung karbohidrat dapat digunakan sebagai media alternatif diantaranya umbi ganyong, umbi gemili dan umbi garut dengan hasil jumlah koloni yang berbeda beda. Hasil tertinggi jumlah koloni *Staphylococcus aureus* didapatkan pada umbi ganyong dengan jumlah koloni $8,17 \times 10^7$ CFU/ml (Anisah and Rahayu, 2015). Penelitian ini pada tingkat efektivitas pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri secara berurutan cukup efektif dan efektif untuk menumbuhkan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan penelitian sebelumnya memiliki efektivitas yang sangat efektif pada pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri Gram negatif *Escherichia coli*. Berdasarkan ukuran diameter koloni pada media alternative dengan bahan umbi kuning dan umbi ungu memiliki ukuran koloni yang lebih kecil dibanding dengan media NA, dan jika dilihat dari pertumbuhan jumlah koloninya bakteri *Staphylococcus aureus* jauh lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* (Khaerunnisa *et al.*, 2019).

Penelitian yang telah dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif dan media NA didapatkan bahwa diameter koloni pada media NA tidak jauh berbeda dengan media alternatif. Hal ini menunjukkan media alternatif dapat digunakan untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Komposisi nutrisi media alternatif yang lebih kompleks sehingga mikroorganisme membutuhkan waktu yang lebih lama untuk pertumbuhan yang dapat digunakan untuk sintesis sel dan energi.

Efektivitas harga media alternatif dan media NA yang digunakan untuk media pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sudah peneliti hitung dan analisis harga perbandingan diantara kedua media tersebut. Rincian harga biaya bersih yang digunakan untuk pembuatan 1000 ml media alternatif adalah sebagai berikut: 10 gr tepung singkong 1.650 rupiah, 10 gr tepung kedelai 1.710 rupiah, 6 gr ragi 45.000 rupiah, 3 ml daging 210 rupiah, 10 gr gula 160 rupiah, 12 gr agar 7.371 rupiah. Sedangkan rincian harga untuk pembuatan 1000 ml media NA adalah 2 gr bubuk NA 114.000 rupiah. Sehingga harga per plate media alternatif dan media NA didapatkan 1.122 rupiah dan 2.280 rupiah dengan selisih 1.158 rupiah atau 50,79 % dapat menghemat biaya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa media alternatif campuran infusa singkong, kacang dan ekstrak ragi dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Rerata jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif $78,25 \times 10^4$ CFU/ml dan media NA $94,19 \times 10^4$ CFU/ml. Rerata diameter jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif 2,63 mm dan media NA 2,66 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Anisah and Rahayu, T. (2015) 'Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda', in *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS 2015*. Surakarta: UNS, pp. 855–860.
- Arum, S. D. K. and Wahyudi, D. (2022) 'Pemanfaatan Ubi Jalar Putih dan Ubi Jalar Kuning Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*', *Jumantik (Jurnal Ilmiah Penelitian Kesehatan)*, 7(4), pp. 317–328. doi: 10.30829/jumantik.v7i4.11634.
- Atlas, R. M. (2010) *Handbook of MICROBIOLOGICAL MEDIA Fourth Edition*. CRC Press.
- Atmanto, Y. K. A. A., Asri, L. A. and Kadir, N. A. (2022) 'MEDIA PERTUMBUHAN KUMAN', *Jurnal Medika Hutama*, 04(01), pp. 3069–3075. Available at: <https://jurnalmedikahutama.com/i>

- ndex.php/JMH/article/download/565/396.
- Atmodjo, S. S. *et al.* (2023) *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Edited by Erwin. Makasar: PT. MASAGENA MANDIRI MEDICA.
- Bonnet, M. *et al.* (2020) 'Bacterial culture through selective and non-selective conditions : the evolution of culture media in clinical microbiology'. doi: 10.1016/j.nmni.2019.100622.
- Fachraniah, Fardiaz, D. and Idiyanti, T. (2002) 'Pembuatan Pepton dari Bungkil Kedelai Dan Khamir Dengan Enzim Papain Untuk Media Pertumbuhan Bakteri', *Jurnal. Teknol. dan Industri Pangan*, XIII(3).
- Kementrian Kesehatan RI (2020) *Tabel Komposisi Pangan Indonesia*. Pertama. Jakarta.
- Khaerunnisa, R. *et al.* (2019) 'Pemanfaatan Air Rebusan Umbi Kuning Dan Ungu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Escherichia Coli dan Staphylococcus Aureus', *JURNAL RISET KESEHATAN POLTEKKES DEPRES BANDUNG*, 11(1), pp. 269–276. doi: <https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v11i1.753>.