



**PEMBUATAN MEDIA AGAR BUATAN DARI KALDU IKAN TONGKOL
(*Euthynnus Affinis*) SEBAGAI MEDIA KULTUR SEDIAAN BAKTERI
Staphylococcus sp.**

**PREPARATION OF ARTIFICIAL AGAR MEDIA FROM SKIPJACK TUNA
(*Euthynnus affinis*) BROTH AS A CULTURE MEDIUM FOR
Staphylococcus sp. BACTERIAL STOCK**

Ely John Karimela^{1*}, Edwin Oskar Langi¹, Julius Frans Wuaten¹, Mukhlis Abdul Kaim¹

¹Jurusan Teknologi Perikanan dan Kebaharian, Politeknik Negeri Nusa Utara

*Korespondensi: karimelaelyjohn@gmail.com

Dikirim: 04 Mei 2026 / Diterima: 30 Juli 2026

ABSTRAK

Penggunaan media kultur komersial seperti Nutrient Agar (NA) semakin terkendala oleh tingginya biaya, sehingga diperlukan alternatif berbahan alami yang lebih ekonomis namun tetap mampu mendukung pertumbuhan mikroorganisme secara optimal. Penelitian ini bertujuan mengetahui efektivitas media agar-agar buatan berbahan kaldu ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) sebagai media kultur alternatif untuk pertumbuhan *Staphylococcus* sp., serta membandingkannya dengan kinerja NA instan. Penelitian dilakukan meliputi tahapan pembuatan kaldu ikan tongkol, formulasi media agar, sterilisasi, inokulasi bakteri, dan inkubasi. Evaluasi performa media dilakukan melalui pengamatan pertumbuhan koloni, uji fisiologis (pewarnaan Gram), serta uji biokimia (katalase dan oksidase), termasuk analisis Total Plate Count (TPC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa media kaldu ikan tongkol mampu mendukung pertumbuhan koloni *Staphylococcus* sp. dengan karakteristik morfologi yang serupa bahkan lebih subur dibandingkan Nutrient Agar instan. Uji Gram memperlihatkan hasil konsisten berupa sel Gram-positif berbentuk kokus, sedangkan uji katalase menunjukkan reaksi positif pada kedua jenis media. Uji oksidase memberikan hasil negatif sesuai karakteristik *Staphylococcus* sp., mengonfirmasi bahwa media alternatif tidak memengaruhi profil biokimia bakteri. Nilai TPC pada media kaldu ikan tongkol juga berada dalam kisaran yang sebanding dengan media standar. Secara keseluruhan, media agar berbahan kaldu ikan tongkol terbukti layak digunakan sebagai alternatif ekonomis untuk kultur *Staphylococcus* sp., serta berpotensi diterapkan pada laboratorium dengan keterbatasan sumber daya.

Kata kunci: Agar alternatif, Media buatan, Media kultur bakteri, Nutrient, Sediaan bakteri.

ABSTRACT

The increasing cost of commercial culture media such as Nutrient Agar (NA) has become a major limitation, creating the need for natural, low cost alternatives capable of supporting optimal microbial growth. This study aims to evaluate the effectiveness of an agar medium formulated from skipjack tuna broth (*Euthynnus affinis*) as an alternative culture medium for the growth of *Staphylococcus* sp., and to compare its performance with commercial NA. The research procedures included the preparation of tuna broth, formulation and sterilization of the agar medium, bacterial inoculation, and incubation. Medium performance was assessed through colony growth observation, physiological testing (Gram staining), biochemical assays (catalase and oxidase), and Total Plate Count (TPC) analysis. The results show that the tuna broth-based medium successfully supported the growth of *Staphylococcus* sp. colonies with morphological characteristics comparable even superior to those on commercial NA. Gram staining consistently produced Gram-positive cocci, while the catalase test showed positive reactions on both media types. The oxidase test resulted in negative reactions, aligning with the known biochemical profile of *Staphylococcus* sp., confirming that the alternative medium does not alter bacterial characteristics. TPC values on the tuna broth medium were also within a comparable range to the standard medium. Overall, the agar medium made from skipjack tuna broth demonstrates strong potential as an economical alternative for culturing *Staphylococcus* sp. and is suitable for use in laboratories with limited resources.

Keywords: *Alternative agar, Artificial medium, Bacterial culture medium, Bacterial stock, Nutrient.*

1. PENDAHULUAN

Media pertumbuhan bakteri merupakan suatu bahan yang mengandung nutrisi sebagai tempat makan dan hidupnya bakteri. Ketersediaan media ini sangat esensial untuk isolasi, kultivasi, dan identifikasi mikroorganisme dalam berbagai penelitian mikrobiologi [1]. Selain itu media tumbuh bakteri juga memiliki fungsi untuk membiakan bakteri lebih banyak. Menurut Sutarma [2], bahwa suatu substansi yang komposisinya terdiri atas nutrisi tertentu yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat bakteri. Komposisi media pertumbuhan dapat dimanipulasi untuk tujuan isolasi dan identifikasi mikroorganisme tertentu. Dalam bidang mikrobiologi untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat mikroorganisme diperlukan suatu media sebagai tempat pertumbuhan mikroorganisme. Media pertumbuhan harus memenuhi persyaratan nutrisi yang dibutuhkan oleh suatu mikroorganisme [3]. Beberapa persyaratan penting bagi media pertumbuhan meliputi kandungan nutrisi yang memadai, tekanan osmosis dan tegangan permukaan yang sesuai, serta pH yang optimal untuk pertumbuhan mikroorganisme [4].

Dalam pengujian mikrobiologi, media tumbuh bakteri perlu disediakan dalam menentukan mikroorganisme yang akan diamati. Untuk pengujian lanjutan misalnya

pengujian fisiologis dan biokimia diperlukan media agar-agar umum atau dikenal dengan Nutrient agar untuk pengkulturan mikroorganisme sebagai tempat sediaan bakteri. Seiring berjalannya waktu, harga media pabrik atau media sintetik seperti Nutrient Agar semakin meningkat, tergantung pada merek yang digunakan. Saat ini, harga media instan tersebut dapat mencapai sekitar Rp 1.500.000 untuk setiap 500 gram. Berdasarkan permasalahan bahwa media pabrikan memiliki harga yang sangat mahal, diperlukan pengembangan media umum berbahan dasar alami sebagai alternatif. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan potensi bahan alami berupa ikan tongkol dan lele sebagai media alternatif untuk pertumbuhan bakteri, termasuk *Escherichia coli* [5]. Hal ini mendorong para peneliti untuk mencari bahan alternatif yang mudah didapat, memiliki harga terjangkau, dan mengandung nutrisi esensial bagi pertumbuhan serta perkembangan bakteri misalnya bakteri *Staphylococcus* sp. [6].

Staphylococcus sp. merupakan genus bakteri Gram-positif berbentuk bulat yang termasuk dalam filum *Bacillota* dan umumnya ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan membran mukosa manusia serta hewan. Media tumbuh bakteri *Staphylococcus* sp. dapat dibuat dari berbagai sumber alami yang kaya akan protein dan nutrisi esensial lainnya, mengingat tingginya biaya media instan yang

beredar di pasaran [7]. Meskipun demikian, media alternatif seringkali menunjukkan hasil pertumbuhan yang kurang optimal dibandingkan dengan Nutrient Agar, sehingga kandungan nutrisi seperti pepton, karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral harus dipertimbangkan secara cermat ([6]. Media alternatif ini dapat digunakan untuk mengkultur bakteri maupun sebagai sediaan bakteri untuk keperluan uji lanjutan di laboratorium. Bahan – bahan alami yang menghasilkan nutrisi sebagai pepton banyak di alam serta melimpahnya sumber alam yang dapat digunakan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme pendorong para peneliti untuk menemukan media alternatif dari bahan-bahan yang mudah didapat dan tidak memerlukan biaya yang mahal [8].

Salah satu media alternatif berbahan dasar alami yaitu dari ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) yang dimodifikasi dan direkayasa sebagai media tumbuh mikroorganisme. Pemanfaatan ikan tongkol sebagai bahan dasar didasari oleh kandungan proteinnya yang tinggi, menjadikannya sumber nutrisi potensial untuk pertumbuhan bakteri [4]. Penelitian yang dilakukan oleh [9] bahwa pemanfaatan agar rumah tangga dengan penambahan kaldu ikan dapat dimanfaatkan sebagai media padat untuk bakteri *Aeromonas hydrophila*. Ikan merupakan salah satu hewani laut yang memiliki kadar protein tinggi sehingga cocok untuk dijadikan sebagai media atau tempat tumbuhnya mikroorganisme sebagai tempat atau makannya mikroorganisme. Protein yang terkandung dalam ikan tongkol mencapai 26,46%, melebihi kadar protein pada ikan lele yang sebesar 24,63% [5]. Kandungan protein yang tinggi ini, terutama yang terdiri dari asam amino esensial, berpotensi menyediakan substrat nitrogen yang kaya untuk sintesis biomassa bakteri [10]. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan kinerja media NA (Nutrient Agar) komersial dengan NA (Nutrient Agar) buatan atau direkayasa sebagai media pertumbuhan bakteri khususnya sebagai stok kultur sediaan bakteri di laboratorium. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi kepada Analis, laboran dan mahasiswa dalam pembuatan media agar stok

kultur sediaan bakteri menggunakan bahan alami yang berbahan dasar ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). Penggunaan bahan alami ini dapat memberikan alternatif yang ekonomis dan berkelanjutan, mengurangi ketergantungan pada media komersial yang mahal [5]. Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan efektivitas media kaldu ikan tongkol dalam menunjang pertumbuhan *Staphylococcus* sp. secara komparatif dengan Nutrient Agar komersial, sehingga dapat menjadi solusi inovatif dalam pengadaan media kultur bakteri yang terjangkau dan mudah diperoleh [5]; [10].

2. METODE

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu inkubator (YCO-N01), Hot Plate (Nesco), magnetic stirrer (Wina Type 206), laminary flow (Panasonic), microscope (Motic Tipe DMB01) dan autoclave (Midnif), beker glass, tabung reaksi dan kain penyaring. Bahan yang digunakan ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) segar sedangkan untuk pembuatan reagen yaitu nutrien Agar (Himedia), brain heart infusion broth (Himedia), NaCl 0,9%, hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%, akuades, crystal violet, lugol, safranin (Merck), Agar (Swallow), Glukosa.

2.2. Pembuatan Media Agar Buatan dari Kaldu Ikan Tongkol

Media agar buatan dibuat dengan memanfaatkan kaldu ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) sebagai sumber nutrien utama pengganti pepton dan ekstrak daging yang umumnya digunakan pada media Nutrient Agar komersial. Pembuatan media diawali dengan membersihkan ikan tongkol segar menggunakan air mengalir untuk menghilangkan darah ikan dan kotoran pada permukaan ikan. Selanjutnya, ikan dipotong menjadi bagian-bagian kecil agar proses ekstraksi nutrien berlangsung lebih optimal. Potongan ikan direbus dengan air steril. Kaldu hasil perebusan kemudian disaring menggunakan kain kasa steril atau kertas saring untuk memisahkan fraksi cair dari tulang, kulit, dan jaringan padat lainnya. Filtrat yang diperoleh digunakan sebagai bahan dasar media. Selanjutnya ditambahkan agar sebagai bahan pematat serta natrium

klorida (NaCl) untuk mempertahankan keseimbangan tekanan osmotik media. pH media kemudian disesuaikan hingga mencapai kisaran $7,0 \pm 0,2$, sesuai kisaran optimum pertumbuhan *Staphylococcus* sp. Media agar buatan yang telah homogen dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi selesai, media agar buatan didinginkan hingga suhu sekitar $45\text{--}50^{\circ}\text{C}$, kemudian dituangkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi untuk dijadikan agar miring dan dibiarkan memadat pada suhu ruang. Media agar buatan yang telah memadat selanjutnya disimpan pada suhu 4°C hingga digunakan untuk pengujian pertumbuhan bakteri. Stok bakteri yang ada, diinokulasikan atau dipindahkan ke agar-agar miring buatan (Swallow) secara aseptis dan perlakuan sama dengan media perbandingan yaitu Nutrient Agar (Instan- Himedia) kemudian diinkubasi menggunakan inkubator (YCO-N01) selama 24 jam pada suhu 35°C . Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri pada kedua media dibandingkan melalui observasi makroskopis (Motic Tipe DMB01) dan mikroskopis untuk mengevaluasi karakteristik koloni serta morfologi sel [6].

2.3. Uji Fisiologi dan Uji Biokimia Bakteri Tumbuh Pada Media Agar Buatan

Pada uji Fisiologis untuk pewarnaan, menggunakan metode pewarnaan Gram (Merck) [11]. Uji biokimia pada uji katalase (hidrogen peroksida 3%) menggunakan metode menurut standar pengujian mikrobiologi [12]. Uji fisiologis meliputi pengamatan karakteristik koloni dan pertumbuhan menggunakan mikroskop (Motic Tipe DMB01), sementara uji biokimia seperti uji sitrat, indol, motilitas, dan H₂S (Merck) dilakukan untuk mengidentifikasi kemampuan metabolisme spesifik *Staphylococcus* sp. pada media buatan ini [1].

2.4. Analisis Data

Data yang diperoleh dari analisa laboratorium dipaparkan secara deskriptif. Hasil pengamatan dari perhitungan jumlah Total TPC disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Jenis penelitian ini termasuk jenis penelitian kuantitatif. Secara keseluruhan

data yang bersifat kuantitatif dianalisa menggunakan metode deskriptif untuk penarikan kesimpulan terhadap suatu aspek yang diteliti. Hasil analisis tersebut kemudian digunakan untuk mengevaluasi efektivitas media kaldu ikan tongkol sebagai alternatif Nutrient Agar, khususnya dalam menunjang isolasi dan identifikasi *Staphylococcus* sp. [13].

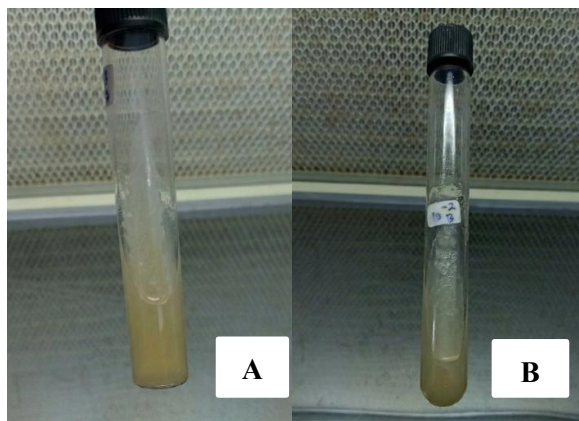
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Efektifitas Media Nutrien Agar Kaldu Ikan Tongkol Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus* sp.

Berdasarkan hasil penelitian antara media agar buatan kaldu ikan tongkol dengan Nutrien Agar (NA) komersial yaitu bakteri yang ditumbuhkan pada media agar-agar buatan terlihat bakteri tumbuh sangat baik dibandingkan dengan NA komersial. Kemungkinan ini diakibatkan hasil komposisi kimia yang ada di media agar-agar buatan dari kaldu ikan tongkol masih segar sehingga sangat cocok sebagai tempat berkembangbiakan mikroorganisme dibandingkan dengan Media sintetis. Hasil pengamatan morfologi koloni menunjukkan bahwa media kaldu ikan tongkol mendukung pertumbuhan koloni yang lebih besar dan lebih tersebar dibandingkan dengan media Nutrien Agar instan [1]. Daging ikan yang direbus mengakibatkan protein terhidrolisis menjadi pepton. Lebih lanjut lagi bahwa bakteri membutuhkan nutrisi untuk menunjang pertumbuhannya [9]. Sementara itu, menurut [14], ikan merupakan sumber protein hewani yang tinggi yaitu 18-30 %. Oleh karena itu, tingginya kandungan protein pada ikan tongkol dapat berperan sebagai sumber nitrogen organik esensial, yang penting untuk sintesis asam amino dan protein bakteri [4]. *Staphylococcus* sp. menunjukkan pertumbuhan optimal pada media kaldu ikan tongkol karena ketersediaan nutrisi esensial yang melimpah, khususnya senyawa nitrogen kompleks yang berasal dari hidrolisis protein ikan seperti asam amino [5].

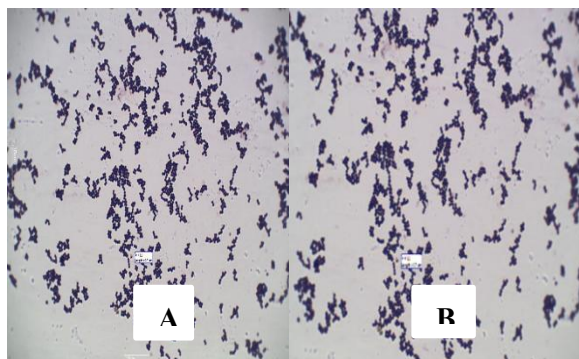
Kandungan yang kompleks dalam media dapat menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme membutuhkan waktu yang lebih lama untuk menguraikan komponen-komponen sederhana yang dapat diserap sel dan digunakan untuk sintesis sel dan energi, [8]. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian

yang menunjukkan bahwa media alternatif dari ikan teri jengki dan ikan layang deles memiliki kandungan nutrisi yang lebih kompleks dibandingkan dengan NA, sehingga dapat memperlambat fase adaptasi bakteri dan memengaruhi pola pertumbuhan koloni [10]. Hasil perbandingan dan penampakan bakteri pada media Agar buatan kaldu ikan tongkol dengan media NA komersial dapat dilihat pada gambar 1 dan 2 di bawah ini.



Gambar 1. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus* sp. pada Media Agar-Agar Buatan (A) dan Pada Media Nutrient Agar Komersial (B)

Fig. 1. Bacterial Growth of *Staphylococcus* sp. on Homemade Agar Medium (A) and on Commercial Nutrient Agar Medium (B).



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram *Staphylococcus* sp. yang Ditumbuhkan pada Media Agar-Agar Buatan (A) dan pada Media Nutrient Agar Komersial (B).

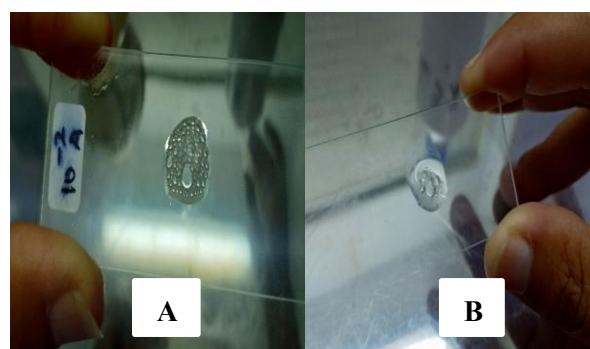
Fig. 2. Gram Staining Results of *Staphylococcus* sp. Grown on Homemade Agar Medium (A) and on Commercial Nutrient Agar Medium (B).

Hasil pengamatan mikroskopis dengan menggunakan pewarnaan Gram pada media buatan menunjukkan karakteristik sel *Staphylococcus aureus* yang serupa dengan

yang ditemukan pada Nutrient Agar, yaitu berbentuk *coccus*, bergerombol, dan berwarna ungu setelah pewarnaan Gram, mengkonfirmasi sifat Gram-positifnya [6]. Hasil ini menunjukkan bahwa media agar-agar berbasis kaldu ikan tongkol mampu mendukung pertumbuhan dan karakteristik fisiologis *Staphylococcus* sp. secara setara dengan media NA komersial. Hasil uji pewarnaan Gram pada kedua stok sediaan bakteri dapat dilihat pada gambar 2A dan gambar 2B dibawah ini.

3.2. Uji Biokimia Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan enzim katalase pada bakteri, yang berperan dalam memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen, dan merupakan salah satu uji biokimia penting untuk membedakan genus *Staphylococcus* [15]. Uji ini digunakan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam mendegradasi hidrogen peroksida melalui reduksi enzim katalase. Hasil uji Katalase bakteri yang diambil dari stock sediaan bakteri yang ditanam pada media Nutrient Agar komersial dan Media agar-agar buatan dengan kaldu ikan tongkol semuanya menghasilkan katalase positif. Pembentukan gelembung gas menunjukkan adanya aktivitas katalase, yang konsisten dengan karakteristik *Staphylococcus* sp. [16-17]. Hasil uji katalase dapat dilihat pada gambar 3A dan gambar 3B di bawah ini.



Gambar 3. Hasil Uji Katalase *Staphylococcus* sp. yang Ditumbuhkan pada Media Agar-Agar Buatan (A) dan pada Media Nutrient Agar Komersial (B).

Figure 3. Catalase Test Results of *Staphylococcus* sp. Grown on Homemade Agar Medium (A) and on Commercial Nutrient Agar Medium (B).

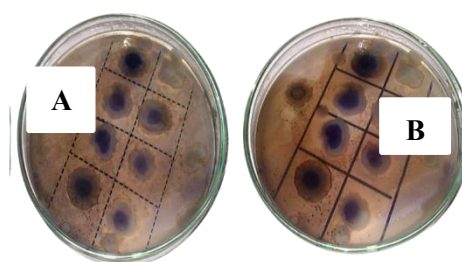
Enzim katalase melindungi *Staphylococcus* sp. dari hidrogen peroksida dengan mengubahnya menjadi air dan oksigen, dan uji katalase ini berperan penting dalam membedakan *Staphylococcus* dari *Streptococcus*. Uji biokimia katalase dilakukan untuk memastikan bahwa penggunaan media agar-agar buatan berbasis kaldu ikan tongkol tidak memengaruhi karakter fisiologis dasar bakteri *Staphylococcus* sp. Pengujian menunjukkan bahwa bakteri yang ditumbuhkan pada media agar kaldu ikan tongkol maupun pada media NA komersial sama-sama menghasilkan reaksi katalase positif. Hasil ini menunjukkan bahwa media agar berbasis kaldu ikan tongkol mampu mendukung pertumbuhan *Staphylococcus* sp. tanpa mengubah sifat biokimia intrinsik bakteri tersebut. Dengan demikian, media alternatif yang dikembangkan bersifat setara dalam mempertahankan karakter fisiologis bakteri, meskipun uji katalase secara spesifik tidak digunakan sebagai parameter pembeda antar media. Ini membuktikan bahwa media alternatif berbasis kaldu ikan tongkol dapat mendukung pertumbuhan bakteri dengan karakteristik biokimia yang identik dengan media komersial standar [18] dan [17]. Pengujian memberikan respon positif dengan terbentuknya gelembung udara pada saat ditetesi dengan H_2O_2 .

3.3. Uji Biokimia Katalase

Uji oksidase berfungsi untuk mendeteksi keberadaan enzim sitokrom oksidase, yang merupakan komponen kunci dalam rantai transpor elektron aerobik dan penting untuk membedakan bakteri berdasarkan jenis respirasinya. Hasil uji oksidase menunjukkan bahwa bakteri yang diambil dari stok kultur dan ditumbuhkan pada media Nutrient Agar komersial maupun media agar buatan berbahan kaldu ikan tongkol sama-sama menghasilkan reaksi katalase positif. Berdasarkan hasil uji biokimia tersebut, dapat disimpulkan bahwa media agar buatan dari kaldu ikan tongkol memiliki kualitas pertumbuhan yang sebanding dengan Nutrient Agar instan sebagai media kultur bakteri. Hal ini ditunjukkan oleh kesamaan respons bakteri pada kedua media, yaitu sama-sama menghasilkan reaksi oksidase negatif pada pengujian lanjutan.

Uji oksidase negatif merupakan karakteristik penting untuk membedakan *Staphylococcus* spp. dari bakteri lain yang memiliki aktivitas sitokrom oksidase positif, seperti *Pseudomonas* [16]. Uji oksidase juga membedakan *Staphylococcus* dari *Micrococcus*, yang umumnya menunjukkan reaksi positif terhadap oksidase. Oleh karena itu, kesamaan hasil oksidase negatif antara media kaldu ikan tongkol dan Nutrient Agar instan semakin memperkuat validitas media alternatif ini untuk isolasi dan karakterisasi awal *Staphylococcus* sp. [19]. Selanjutnya, uji oksidase negatif ini juga konsisten dengan identifikasi *Staphylococcus* sebagai bakteri fakultatif anaerobik, yang tidak selalu bergantung pada rantai transpor elektron yang mengandung sitokrom oksidase [19].

Selain itu, tidak adanya sitokrom oksidase juga menjadi pembeda penting dengan bakteri gram-negatif aerobik obligat yang sangat bergantung pada jalur ini untuk menghasilkan energi. Perbedaan respons ini menjadi krusial dalam identifikasi mikroorganisme secara cepat dan akurat di laboratorium mikrobiologi [20]. Uji oksidase mengidentifikasi adanya enzim sitokrom c oksidase, yang terlibat dalam rantai transpor elektron bakteri dan produksi spesies oksigen reaktif [21]. Hasil uji Oksidase bakteri dapat dilihat pada gambar 4 di bawah ini.



Gambar 4 Hasil Uji Oksidase *Staphylococcus* sp. yang Ditumbuhkan pada Media Agar-Agar Buatan (A) dan pada Media Nutrient Agar Komersial (B).

Fig. 4. Oxidase Test Results of *Staphylococcus* sp. Grown on Homemade Agar Medium (A) and on Commercial Nutrient Agar Medium (B).

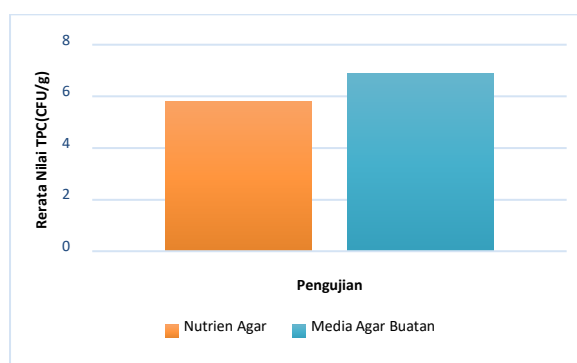
Media agar buatan berbasis kaldu ikan tongkol menunjukkan kemampuan dalam mendukung pertumbuhan bakteri *Staphylococcus* sp. dengan karakteristik fisiologis dan biokimia yang konsisten,

sebagaimana ditunjukkan oleh hasil uji kualitatif yang sejalan dengan media Nutrient Agar komersial [4]; [22]. Hal ini diperkuat oleh fakta bahwa baik media kaldu ikan tongkol maupun Nutrient Agar instan menunjukkan hasil uji oksidase negatif pada semua isolat bakteri, yang merupakan ciri khas penting untuk identifikasi *Staphylococcus* sp. [6].

3.4. Uji Total Plate Count

Metode *Total Plate Count* atau hitungan cawan adalah teknik kuantitatif standar yang digunakan untuk mengestimasi jumlah sel mikroorganisme hidup dalam suatu sampel, dengan menghitung koloni yang terbentuk setelah inkubasi pada media agar. Metode ini mengandalkan prinsip bahwa setiap sel mikroorganisme yang viable akan berkembang menjadi satu koloni yang terlihat setelah diinkubasi dalam kondisi yang sesuai [4];[23]. Aplikasi media tumbuh dari kaldu ikan tongkol dalam uji TPC ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitasnya sebagai media kultur alternatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa media ini mendukung pertumbuhan koloni bakteri dengan jumlah yang sebanding dengan media standar, mengindikasikan potensinya sebagai pengganti dalam perhitungan kuantitatif bakteri seperti *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis mikrobiologis dari nilai total plate count terhadap kedua media tumbuh bakteri, maka didapatkan hasil nilai dari analisa total bakteri dengan menggunakan metode angka lempeng total dapat dilihat pada gambar 5 di bawah ini.



Gambar 5. Grafik Perbandingan Nilai *Total Plate Count* (TPC) Pada Kedua Media.

Figure 5. Comparative Graph of *Total Plate Count* (TPC) Values on Both Media.

Berdasarkan hasil pengujian *Total Plate Count* (TPC), diperoleh perbedaan jumlah total bakteri *Staphylococcus* sp. yang tumbuh pada kedua media uji. Media Nutrient Agar menunjukkan nilai rata-rata TPC sebesar $5,8 \times 10^3$ CFU/g dengan standar deviasi 0,53, sedangkan media buatan berbasis kaldu ikan tongkol menghasilkan nilai rata-rata TPC sebesar $7,1 \times 10^3$ CFU/g dengan standar deviasi 0,56. Data tersebut diperoleh dari tiga kali ulangan perlakuan dengan kondisi pertumbuhan yang sama, sehingga perbedaan nilai TPC mencerminkan respons pertumbuhan bakteri terhadap karakteristik media yang digunakan. Hasil ini menunjukkan bahwa media buatan berbasis kaldu ikan tongkol memiliki kemampuan yang baik dalam mendukung pertumbuhan *Staphylococcus* sp. pada kondisi percobaan yang diterapkan.

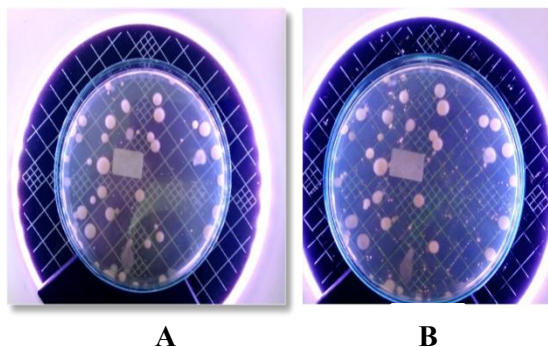
Tabel 1. Nilai Total Plate Count pada Kedua Media Agar.

Table 1. Total Plate Count Values on the Two Types of Agars Media.

Replication	Media Nutrien Agar (CFU/g $\times 10^3$)	Artificial Medium (CFU/g $\times 10^3$)
	5.2×10^3 CFU/g	7.6×10^3 CFU/g

Rata-rata $\pm$ SD = 5.8 ± 0.53 ; 7.1 ± 0.65

Penentuan *Total Plate Count* sampel bakteri *Staphylococcus aureus* pada media alternatif kaldu ikan tongkol menghasilkan beberapa koloni yang tumbuh, jumlah koloni ini yang sebanding dengan media standar. Angka tersebut menunjukkan bahwa media agar buatan ini memiliki kapabilitas yang kompetitif untuk aplikasi rutin di laboratorium [4]. Pengujian TPC ini krusial untuk memastikan kualitas media alternatif setara dengan media komersial dalam menghitung jumlah mikroorganisme [24]. Sebagai contoh, penelitian lain yang menggunakan limbah ikan bandeng sebagai media alternatif Nutrient Agar juga menerapkan metode *Total Plate Count* untuk menghitung koloni bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, menunjukkan konsistensi dalam pendekatan kuantitatif [4]. Penampakan koloni dapat dilihat pada gambar 6A dan gambar 6 dibawah ini.



Gambar 6. Hasil Uji *Total Plate Count* *Staphylococcus* sp. yang Ditumbuhkan pada Media Agar-Agar Buatan (A) dan pada Media Nutrient Agar Komersial (B)

Fig. 6. Total Plate Count Test Results of *Staphylococcus* sp. Grown on Homemade Agar Medium (A) and on Commercial Nutrient Agar Medium (B).

Media agar buatan dari kaldu ikan tongkol menunjukkan hasil TPC yang sebanding dengan kontrol positif, mengindikasikan bahwa media ini memiliki kapasitas yang kompetitif untuk mendukung pertumbuhan dan kuantifikasi bakteri *Staphylococcus* sp. [25]. Hal ini menunjukkan bahwa media alternatif ini berpotensi digunakan sebagai pengganti media komersial untuk isolasi dan enumerasi bakteri, asalkan jumlah koloni yang tumbuh berada dalam kisaran Standar Plate Count, yaitu antara 30 hingga 300 koloni [26]. Konsistensi hasil ini mendukung pengembangan media kultur yang lebih terjangkau, mengingat tingginya biaya media komersial seperti Nutrient Agar, yang mendorong pencarian alternatif dari bahan alami [27]. Pemanfaatan kaldu ikan sebagai bahan dasar media kultur juga selaras dengan upaya mengurangi limbah organik dan meningkatkan nilai tambah produk samping perikanan, sejalan dengan prinsip keberlanjutan. Pengembangan media kultur dari bahan alami ini menawarkan solusi ekonomis dan berkelanjutan bagi laboratorium dengan keterbatasan anggaran, tanpa mengorbankan akurasi dalam penghitungan bakteri [25]. Penampakan koloni pada media kaldu ikan tongkol menunjukkan karakteristik morfologi koloni *Staphylococcus* sp. yang khas, seperti bentuk bulat, cembung, dan warna putih hingga krem.

4. KESIMPULAN

Media agar-agar buatan dari kaldu ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) memiliki potensi besar sebagai media kultur alternatif untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus* sp., dengan kualitas yang sebanding dengan media Nutrient Agar komersial. Kemampuan media kaldu ikan tongkol dalam mendukung pertumbuhan *Staphylococcus* sp. secara efektif telah dibuktikan melalui, uji pewarnaan Gram, uji oksidase dan Total Plate Count, yang memberikan hasil konsisten dengan media standar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Politeknik Negeri Nusa Utara yang telah memberikan dukungan melalui pendanaan Hibah Penelitian Program Penelitian Unggulan Program Studi Tahun 2025 Skema Mandiri, dengan nomor kontrak: 03/PL30/P3M/KTRK/2025 pada tanggal 22 Juni 2025 atas nama Ir. Ely John Karimela, S. Pi, M. Si, IPM, ASEAN Eng.

DAFTAR PUS TAKA

- [1] Alinski A, Pamungkas SP., Alhammam PH., Hasanudin MA., & Piliang W. 2025. Review Hasil Praktikum Mulai dari Isolasi Sampai Pewarnaan Gram (Praktikum Mikrobiologi Akuakultur). Manado: Unsrat.
- [2] Sutarma. 2000. Kultur Media Bakteri. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- [3] Atlas RM. 2004. Handbook of Microbiological Media. 4th ed. Vol. 1. Boca Raton: CRC Press.
- [4] Gufron GNR., Pestariati, & Arifin S. 2022. Ability Analysis of Waste Milkfish (*Chanos chanos*) as Alternative Medium of Nutrient Agar on *Escherichia coli* and *Staphylococcus Aureus* Growth. Medica. Journal of Medical Laboratory Science/Technology, 5(2):74-79.
- [5] Al-Ayubi MS., Pestariati P, Anggraini AD., & Mutiarawati DT. 2022. Potensi Ikan Tongkol dan Ikan Lele Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Escherichia coli*. Journal Muhammadiyah Med Lab Technol, 5(2):124-131.
- [6] Martsiningsih MA., Suyana S., Kasiyati M., Pudiyastuti RR., Rahayu M. & Ajzahra ARA. 2023. Campuran Infusa Talas (*Xanthosoma sagittifolium*), Kacang Kedelai (*Glycine max*) dan Ekstrak Ragi Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ners, 7(2):1068-1074.
- [7] Juariah S. 2021. Media Alternatif Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dari Biji Durian (*Durio zibethinus*). Meditory, 9(1):19-25.
- [8] Rahayu AT. 2015. Media Alternatif Untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber

- Karbohidrat yang Berbeda. Prosiding Seminar Nasional XII, Pendidikan Biologi FKIP UNS.
- [9] Dwinanti SH. & Tanbiyaskur. 2014. Modification of Non-Selective-Solid Media for Aquatic Bacteria. Jurnal Akuakultur Indonesia, 13(2):163-166.
- [10] Nurhasanah AG., Pestariati P., Anggraini AD., & Astuti SSE. 2023. Pemanfaatan Teri Jengki (*Stolephorus indicus*) dan Layang Deles (*Decapterus macrosoma*) Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Escherichia coli*. Jurnal Muhammadiyah Med. Lab. Technol, 6(1):77-86.
- [11] Prescott LM. 1992. Microbiology: The Gram Stain.
- [12] Cappuccino JG., & Sherman N. 1992. Microbiology: A Laboratory Manual. New York: Benjamin/Cummings.
- [13] Fairizca S., Mahatmi H., & Sudipa PH. 2022. *Staphylococcus* spp. pada Ikan Koi yang Dipelihara Dalam Kolam Isolasi pada Masa Karantina. Buletin Veteriner Udayana, 14:287.
- [14] Nurwahyuningsih V. 2010. Pemanfaatan Air Rebusan Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) Sebagai Bahan Pembuatan Kerupuk. Skripsi. FPIK. IPB.
- [15] Hamidah MN., Rianingsih L., & Romadhon R. 2019. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. Coli* dan *S. aureus*. Jurnal Ilmu Teknol. Perikanan, 1(2):11-21.
- [16] Karimela EJ., Ijong FG., & Dien HA. 2017. Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolated from Traditionally Smoked Pinekuhe Fish in Sangihe District. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 220(1):188-198.
- [17] Karimela EJ. 2025. Mikrobiologi Terapan: Panduan Praktikum Pengujian Mikrobiologi Hasil Perikanan. Purbalingga: Diva Pustaka.
- [18] Chandra KS., Mayura IPB., Budayanti NNS., & Hendrayana MA. 2024. Kolonisasi Bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* pada Uang Kertas. E-Jurnal Medika Udayana, 13(5):92.
- [19] Suardana IW., Dinarini NMAA., & Sukrama IDM. 2021. Identifikasi Spesies *Streptokokus B-Hemolisis* Hasil Isolasi dari Nasal dan Tonsil Babi dengan Uji Basitrasin. Buletin Veteriner Udayana, 13(1): 27-33.
- [20] Stachurska X., Środa B., Dubrowska K., Jabłońska J., Roszak M., & Karakulska J. 2020. Tolerance of Environmental Bacteria to Heavy Metals. Acta Sci Pol Zootechnica, 19(2):63-73.
- [21] Lee PA. 2023. Phenotypic Tests and Biochemical Procedures. ClinMicroNow.
- [22] Satwika, TD., Yulianti, DM., & Hikam, AR. 2021. Karakteristik dan Potensi Enzimatik Bakteri Asal Tanah Sampah Dapur dan Kotoran Ternak Sebagai Kandidat Agen Biodegradasi Sampah Organik. Al-Hayat Journal of Biology and Applied Biology, 4(1): 11-18.
- [23] Supriyatna A. 2017. Peningkatan Nutrisi Jerami Padi Melalui Fermentasi dengan Menggunakan Konsorsium Jamur. Jurnal Istek, 10(2): 166-181.
- [24] Andriyono S., Vega C., Elkana D., Putri OS., & Leonard R. 2013. Rekayasa *Chitosan* Sebagai Pengawet dan Meningkatkan Kadar Protein Dalam Tahu. Jurnal Ilmu Perikanan Kelautan, 5(2):145-150.
- [25] Khaerunnisa R., Kurniati I., Nurhayati D., & Dermawan A. 2019. Pemanfaatan Air Rebusan Umbi Kuning dan Ungu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Bandung, 11(1):1-8.
- [26] Zamilah M., Ruhimat U., & Setiawan D. 2020. Media Alternatif Kacang Tanah Untuk Pertumbuhan Bakteri. Jurnal Indonesia Med. Lab. Sci. 1(1):57-65.
- [27] Patricia V., Hamtini H., Yani A., Choirunnisa A., Ermala E., & Indriani I. 2022. Potensi Pemanfaatan Jagung, Kacang Hijau dan Ubi Cilembu sebagai Media Kultur Bakteri *Escherichia coli*. Care Jurnal Ilmu-Ilmu Kesehatan, 10(3):460-468.