

## PERBANDINGAN PERTUMBUHAN JAMUR PADA MEDIA BEKATUL DEXTROSE AGAR (BDA) DAN POTATO DEXTROSE AGAR (PDA)

Mujahidah Basarang<sup>1)</sup>, Nurlia Naim<sup>2)</sup>, Rahmawati<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Dosen Akademi Analisis Kesehatan Muhammadiyah Makassar

<sup>2)</sup> Dosen Poltekkes Kemenkes Makassar

### ABSTRACT

Fungal culture media in laboratory containing high carbohydrate source, nitrogen source are required for the growth. This nutrient can be found in bran that contains high carbohydrates, proteins, fats, vitamins, and crude fiber. So that bran can be used as raw material for alternative fungal growth media. The aim of this study was to compare fungal growth on bran infusion dextrose agar (BDA) and potato dextrose agar (PDA). Mix bran infusion with dextrose, agar and water and boil to dissolve. PDA used as the standard. Plugs of spores of *Aspergillus niger* placed at the centre of each petri plate were used to assess growth and sporulation. *Candida albicans* is inoculated on BDA and PDA using the spread plate method. The mycelial growth and sporulation of *A. niger* on all media were reasonably good. There was no significant difference ( $P > 0.05$ ) between colony diameters and sporulation. Colonies of *Candida albicans* on BDA and PDA were  $8.5 \times 10^5$  CFU and  $8.5 \times 10^5$  CFU. The bran media in the study supported growth and sporulation of the test fungi.

**Keywords:** *Bekatul Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Aspergillus niger, Candida albicans*

### 1. Pendahuluan

Mikroorganisme yang sedang tumbuh membuat replika dirinya sendiri, dan memerlukan unsur-unsur yang terdapat dalam komposisi kimia tubuh mikroorganisme tersebut. Nutrien harus menyediakan unsur-unsur tersebut dalam bentuk yang dapat dimetabolisme (Brooks et al., 2012). Nutrien yang disiapkan untuk pertumbuhan mikroorganisme di laboratorium disebut media kultur yang akan mempengaruhi morfologi, warna koloni dan jumlah koloni jamur (Uthayasooryan et al., 2016). Secara kimiawi media pertumbuhan dibedakan menjadi media sintetik dan media nonsintetik. Media sintetik seperti *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) atau *Potato dextrose Agar* (PDA) memiliki kandungan yang diketahui secara terperinci yaitu penambahan senyawa organik dan anorganik murni yang secara selektif menumbuhkan jamur karena keasamannya rendah (pH 4,5-5,6) sehingga menghambat pertumbuhan bakteri (Cappucino dan Sherman, 2013).

Media nonsintetik merupakan media alternatif yang memanfaatkan bahan-bahan yang terdapat di alam. Kandungan bahan-bahan ini tidak diketahui kandungannya secara rinci tapi dapat digunakan karena tersedia melimpah di alam, mudah disiapkan dan harganya murah. Beberapa hasil penelitian yang menggunakan media alternatif dari bahan alam seperti pati singkong untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dan *Fusarium oxysporum* (Kwoseh et al., 2012), kacang tunggak, kacang hijau, kacang soya hitam, dan kedelei (Arulanantham, et al., 2014), ganyong, gembili dan garut (Aini dan Rahayu, 2015), sereal, dan kacang-kacangan (Uthayasooryan, et al., 2016).

Media alternatif yang lain adalah media yang menggunakan bahan baku bekatul. Bekatul adalah limbah halus yang diperoleh dari proses penggilingan gabah padi. Kadar selulosa dan hemiselulosa pada bekatul lebih tinggi dibandingkan pada beras. Bekatul mengandung sumber nutrisi bagi jamur karena terdiri atas karbohidrat (84,36%) dan protein (8,77%) (Nursalim dan Razali, 2007). Selain itu bekatul juga mengandung lemak, vitamin, dan serat kasar (Houston 1972 dalam Dewi et al., 2005). Basu et al (2015) menjelaskan bahwa media pertumbuhan jamur harus mengandung sumber karbohidrat tinggi dan sumber nitrogen. Nutrien dalam media pertumbuhan harus mengandung semua unsur yang diperlukan untuk sintesis biologis organisme-organisme baru (Brooks et al., 2012). Bekatul mempunyai kandungan vitamin B yang merupakan faktor penting untuk pertumbuhan jamur. Oleh karena itu bekatul telah dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan *Aspergillus sp* di laboratorium (Naim, 2016). Bekatul dapat dimanfaatkan sebagai media untuk pertumbuhan jamur penghasil enzim, seperti *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp*, dan *Mucor sp* (Satyawiharja 1984 dalam Dewi et al., 2005). Pertumbuhan *Aspergillus sp* pada media bekatul dengan penambahan glukosa tidak berbeda dengan pertumbuhan *Aspergillus sp* pada media SDA sebagai media kontrol. Pertumbuhan *Aspergillus sp* pada media BDA dan SDA terlihat setelah 24 jam inokulasi. *Aspergillus sp* terlihat sebagai serabut-serabut

<sup>1</sup> Korespondensi Penulis: Mujahidah Basarang, Telp. 085255011014, mujahidahbasarang@yahoo.com

halus berwarna putih. Setelah 48 jam konidia berwarna hitam mulai terlihat sehingga penampakan maksorkopik dari atas koloni-koloni jamur berubah warna menjadi hitam (Basarang et al., 2016).

Peluang pertumbuhan khamir pada media yang kurang subur lebih baik jika dilakukan penambahan glukosa (karbohidrat) pada media tersebut. Hifa akan menyerap molekul sederhana seperti glukosa secara langsung. Penambahan glukosa 5% dan 7% pada medium SDB (*Sabouraud Dextrose Broth*) dapat meningkatkan pertumbuhan *C. albicans* secara signifikan (Leepel et al., 2012). Oleh karena itu penambahan gula sederhana seperti dextrose pada media bekatul dapat mengoptimalkan pertumbuhan jamur. Pembuatan media alternatif BDA menggunakan prosedur yang sama dengan pembuatan PDA dari infus kentang. Bekatul yang telah dilarutkan dalam aquades disaring untuk mendapatkan infus bekatul. Infus bekatul inilah yang dicampur dengan bahan lain seperti dextrosa dan agar (FDA, 2017). Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan untuk membandingkan pertumbuhan jamur pada media infus *bekatul dextrose agar* (BDA) dan media *potato dextrose agar* (PDA).

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah cawan petri, autoklaf, *incubator*, *hot plate*, timbangan digital, labu *erlenmeyer*, gelas ukur, beker gelas, tabung reaksi, batang pengaduk, sendok tanduk, *nall/ose*, corong, plastik klip, plastik tahan panas, tabung eppendorf, pipet mikro, kain saring saring, aluminium foil, ose bulat, ose lurus, swab steril, kapas, kaca preparat, pipet tetes, lampu spritus, ayakan, mikroskop dan alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah bekatul, aquades, isolat *Candida albicans*, isolat *Aspergillus niger*, agar, dextrosa, kloramfenikol, NaCl, alkohol 70%, spritus, kapas, *Potato Dextrosa Agar*, kristal violet, lugol, alkohol 96%, karbol fuchsin, lactophenol cotton blue, dan minyak emersi.

### Prosedur Penelitian

Penyiapan media bekatul mengikuti prosedur penyiapan media *Potato Dextrosa Agar* yang ditentukan oleh *Food and Drug Administration* (2017). Bekatul dikumpulkan dari pabrik penggilingan padi. Bekatul kemudian diayak menggunakan ayakan mesh 100. Untuk membuat infus bekatul, bekatul direbus dalam 1000 mL aquades. Bekatul disaring ke dalam labu *Erlenmeyer* kemudian ditambahkan agar, dextrosa dan aquades sampai tanda 1000 mL. Media bekatul dextrose agar (BDA) dipanaskan di atas *hot plate* sampai larut sempurna. Diukur pH  $5,6 \pm 2$ . Mulut labu *Erlenmeyer* disumbat dengan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ . Setelah proses sterilisasi selesai, media dikeluarkan dari autoklaf. BDA dibiarkan sampai suhu  $45-50^{\circ}\text{C}$  kemudian ditambahkan kloramfenikol untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Media BDA dituang ke dalam cawan petri setril sebanyak 15-20 mL dan dibiarkan memadat.

Ditimbang PDA sebanyak 39 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu *Erlenmeyer*, ditambahkan 1000 mL aquades steril. Media dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai larut dengan sempurna. Diukur pH  $5,6 \pm 2$ . PDA kemudian disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit, pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ , dengan tekanan 1-2 atm. Setelah proses sterilisasi selesai, media dikeluarkan dari autoklaf, media didinginkan sampai suhu  $45-50^{\circ}\text{C}$ . Ditambahkan kloramfenikol untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Media PDA dituang ke dalam cawan petri setril sebanyak 15-20 mL dan dibiarkan memadat.

*Aspergillus niger* diinokulasikan pada media BDA dan PDA dengan metode *single dot* di tengah media agar pada cawan petri. Inkubasi pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 2-7 hari. Setiap 24 jam dilakukan penghitungan diameter pertumbuhan *Aspergillus niger*. Pertumbuhan koloni diamati kemudian dilakukan pengamatan mikroskopik untuk mengamati morfologi keduanya. Sedangkan *Candida albicans* diencerkan sampai  $10^{-6}$  dan diinokulasi pada media BDA dan PDA. Inkubasi pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam dengan metode *spread plate*, setelah inkubasi dihitung total jamur dengan metode TPC (*Total Plate Count*).

Pertumbuhan jamur pada masing-masing cawan petri diamati bentuk dan warna koloni. Koloni yang tumbuh kemudian diamati secara mikroskopis menggunakan preparat basah. Untuk pengamatan *Aspergillus sp.*, dengan hati-hati koloni diletakkan di tengah kaca objek yang telah digenangi lactophenol cotton blue. Amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40 (Lay, 1994). Identifikasi *Candida sp* dapat dilakukan dengan teknik pewarnaan Gram kemudian amati di bawah mikroskop pada perbesaran 10x100 (Cappucino dan Sherman, 2013).

Pengamatan yang dilakukan meliputi pengukuran diameter pertumbuhan *Aspergillus niger*. Diameter pertumbuhan dianalisis menggunakan aplikasi SPSS untuk membandingkan pertumbuhan *Aspergillus niger* pada media BDA dan PDA. Pengamatan *Candida albicans* dengan menghitung jumlah koloni dan analisis data dilakukan secara deskriptif.

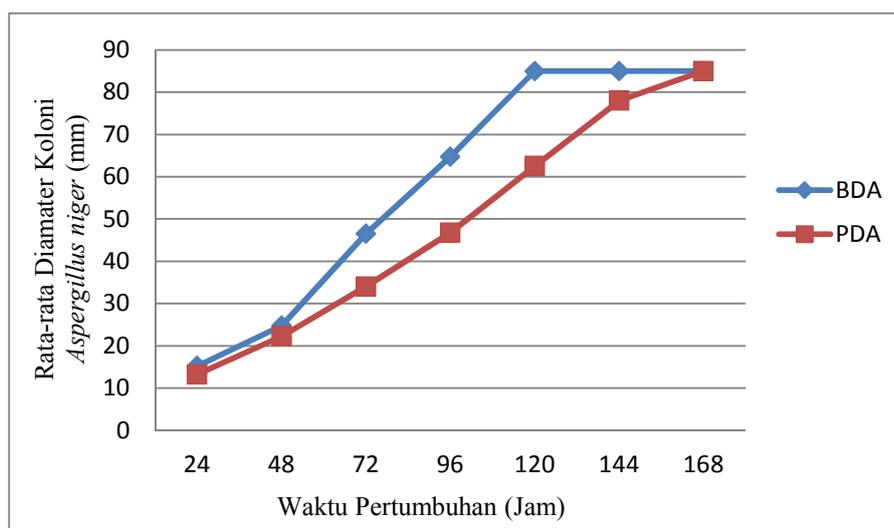
### 3. Hasil dan Pembahasan

Pertumbuhan jamur membutuhkan nutrisi dan faktor-faktor lingkungan yang sesuai. Nutrien berupa unsur-unsur atau senyawa kimia dari lingkungan digunakan sel sebagai konstituen kimia penyusun sel. Menurut Basu, et.al. (2015), jamur akan tumbuh optimal pada media dengan sumber karbohidrat dan nitrogen yang tinggi. Peran utama nutrisi adalah sebagai sumber energi, bahan pembangun sel, dan asektor elektron, sumber mineral, faktor pertumbuhan, dan nitrogen (Waluyo, 2016). Selain faktor nutrisi, selama pertumbuhan pH dan suhu harus terkontrol (Brooks, et al., 2012). *Candida albicans*, dan *Aspergillus niger* mengalami pertumbuhan yang baik pada media BDA dan PDA karena tersedianya nutrisi dan faktor lingkungan yang terjaga. Pertumbuhan *Candida albicans*, dan *Aspergillus niger* disajikan dalam tabel hasil pengamatan berikut.

**Tabel 1. Rata-rata Diameter Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada Media BDA dan PDA**

Media	Diameter Pertumbuhan pada Jam ke-						
	(mm)						
	24	48	72	96	120	144	168
Bekatul Dextrosa Agar	15,25	24,75	46,5	64,75	85 (Full)	85 (Full)	85 (Full)
Potato Dextrosa Agar	13	22,25	34	46,75	78	85 (Full)	85 (Full)

Dari tabel 1 terlihat bahwa setiap 24 jam terdapat penambahan diameter *Aspergillus niger*. Koloni *Aspergillus niger* memenuhi semua permukaan media *bekatul dextrosa agar* pada jam ke-120, sedangkan di media *potato dextrosa agar* pada jam ke-144. Berikut adalah gambar grafik pertumbuhan *Aspergillus niger*.



Gambar 1. Grafik Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada Media Bekatul Dextrose Agar (BDA) dan Potato Dextrose Agar (PDA)

Diameter pertumbuhan *Aspergillus niger* mengalami penambahan yang diukur setiap 24 jam. Pada grafik di atas *Aspergillus niger* menunjukkan pertumbuhan diameter secara eksponensial pada jam ke 24 sampai jam ke 120, pada jam ke 120 sampai jam ke 168 pertumbuhan memenuhi cawan petri sehingga tidak dapat diukur lagi. Pada media PDA *Aspergillus niger* mengalami pertumbuhan eksponensial pada umur biakan 24 jam sampai 168 jam. Setelah 168 jam diameter tidak dapat dihitung lagi karena *Aspergillus niger* telah tumbuh memenuhi cawan petri.

Pertumbuhan *Candida albicans* dinyatakan dalam jumlah koloni pada tabel sebagai berikut.

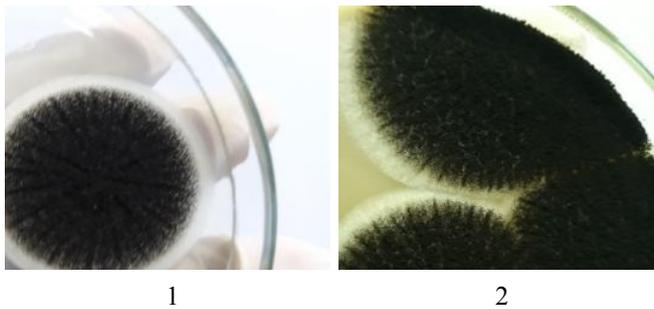
**Tabel 2. Pertumbuhan *Candida albicans* pada Media BDA dan PDA**

Media	Jumlah Koloni (CFU)
Bekatul Dextrosa Agar	$8,5 \times 10^5$
Potato Dextrosa Agar	$8,9 \times 10^5$

Pada BDA ditemukan koloni *Candida albicans*  $8,5 \times 10^5$  CFU dan pada media PDA ditemukan koloni *Candida albicans*  $8,5 \times 10^5$  CFU.

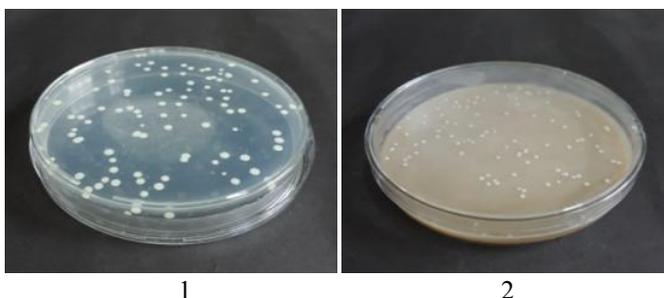
Hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* dan *Candida albicans* dapat tumbuh pada media infus Bekatul Dextrose Agar dan pada media sintetik yang sering di gunakan di laboratorium yaitu media Potato Dextrose Agar. Pertumbuhan jamur seiring dengan dengan perbanyak jumlah sel ini disebabkan tercukupinya nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur untuk mensintesis komponen-komponen sel pada proses perbanyak sel. Media BDA menggunakan bahan baku bekatul yang memiliki kandungan kompleks. Bekatul mengandung karbohidrat (84,36%) dan protein (8,77%), selain itu bekatul mengandung karbohidrat tinggi, protein, lemak, vitamin, dan serat kasar (Nursalim dan Razali, 2007).

*Aspergillus sp* pada media BDA dan PDA menunjukkan hifa berwarna putih dan konidia yang mulai terlihat setelah masa inkubasi 24 jam berupa hifa putih. Setelah 48 jam konidia yang berwarna coklat gelap sampai hitam terlihat menutupi hifa yang berwarna putih (Gambar 1 dan 2). *Aspergillus niger* pada media BDA mengalami pertumbuhan lebih cepat dibandingkan *A. niger* yang ditumbuhkan pada media PDA. Meskipun demikian pertumbuhan *A. niger* pada media BDA dan PDA tidak berbeda secara signifikan ( $p > 0,05$ ). Hasil pengamatan pertumbuhan pada kedua media menunjukkan pertumbuhan eksponensial pada biakan berumur 24 jam sampai 120 jam pada media BDA dan dan 24 jam sampai 144 jam. Setelah itu pertumbuhan tidak dapat diamati lagi karena pertumbuhan jamur telah memenuhi cawan petri. Pada fase pertumbuhan eksponensial ini jamur bertumbuh sangat cepat. Kecepatan pertumbuhan dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya (Waluyo, 2016). Pertumbuhan ini akan terus berlanjut hingga satu atau lebih nutrisi dalam medium telah habis atau produk metabolik toksik terkumpul dan menghambat pertumbuhan (Brooks et al., 2013).



Gambar 1. Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada media Potato Dextrose Agar (1), dan Bekatul Dextrose Agar (2)

Pertumbuhan *Candida albicans* dinyatakan dalam jumlah koloni. Pada media BDA jumlah koloni *Candida albicans* adalah  $8,5 \times 10^5$  CFU dan pada media PDA jumlah koloni *Candida albicans* adalah  $8,5 \times 10^5$  CFU. Koloni *C. albicans* tumbuh pada BDA dan PDA setelah inkubasi 24 jam tampak berwarna putih, halus, licin, ukuran koloni dari kecil sampai ukuran besar dan berbau ragi (Gambar 2). Pada pengamatan mikroskop ditemukan bentuk bulat sampai oval dan tunas spora (*budding blastokonidia*).



Gambar 2. Pertumbuhan *Candida albicans* pada media Potato Dextrose Agar (1), dan Bekatul Dextrose Agar (2)

Selain tercukupinya nutrisi, pertumbuhan dan perkembangan jamur juga membutuhkan faktor-faktor lingkungan yang sesuai, seperti pH dan suhu. Pada penelitian ini pH media sekitar 5,6 dan diinkubasi pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$ . Cappucino dan Sherman (2013) mengatakan bahwa media pertumbuhan jamur membutuhkan

keasamannya rendah (pH 4,5-5,6). Pertumbuhan *C. albicans* lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Biswas dan Chaffin, 2005). Beberapa enzim, sistem transpor elektron dan sistem transpor nutrisi yang berada di membran sel sangat sensitif (peka) terhadap konsentrasi ion hidrogen ( $H^+$ ). Hal ini dapat mempengaruhi struktur tiga dimensi protein pada umumnya, termasuk enzim-enzim pertumbuhan (Ali, 2005). Fungi mesofilik tumbuh paling baik pada suhu 30-37°C (Brooks et al., 2013). Pada suhu optimum, reaksi kimiawi dan enzimatik dalam sel berlangsung lebih cepat sehingga pertumbuhan meningkat lebih cepat pula. Akan tetapi di atas suhu tertentu, protein, asam nukleat dan komponen-komponen sel lainnya mengalami kerusakan permanen. Selanjutnya bila terjadi kenaikan suhu pada kisaran tertentu, pertumbuhan dan fungsi metabolit meningkat sampai titik tertinggi yang memungkinkan reaksi tidak berjalan sama sekali (Ali, 2005).

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada media Bekatul Dextrose lebih cepat dibandingkan pada media Potato Dextrose Agar ( $p > 0,05$ ) tapi tidak berbeda secara signifikan.
- 2) Jumlah koloni *Candida albicans* pada media Bekatul Dextrose Agar dan media Potato Dextrose Agar adalah  $8,5 \times 10^5$  CFU dan  $8,9 \times 10^5$  CFU.

#### 5. Daftar Pustaka

- Aini, N., dan Rahayu, T. 2015. *Media Alternatif untuk Pertumbuhan Jamur Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda* (Skripsi). Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Arulanantham, R., et al. 2014. *Alternative culture media for fungal growth using different formulation of protein sources*. Annals of Biological Research. 5(1):36-39.
- Basarang, M., Rianto, MR., dan Magfirah. 2016. *Penambahan Glukosa pada Media Bekatul Agar untuk Pertumbuhan Aspergillus sp.* Jurnal Medika: Media Ilmiah Analisis Kesehatan. 1(2): 56-61.
- Basu, S., et al. *Evolution of bacterial and fungal growth media*. Bioinformation. 2015. 11(4): 182-184.
- Biswas, SK., dan Chaffin, WL. 2005. *Anaerobic Growth of C. albicans Does Not Support Biofilm Formation Under Similar Conditions Used for Aerobic Biofilm*. Curr Microbiol. 51(2): 100-4.
- Brooks, GF., Carroll, KC., Butel, JS., Morse, SA., Mietzner, TA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick & Adelberg's Ed. 25*. Alih Bahasa: Aryandhito Widhi Nugroho, dkk. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Cappuccino, J., G., Sherman, N. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Dewi, C., Purwoko, T., dan Pangastuti, A. 2005. *Produksi Gula Reduksi oleh Rhizopus oryzae dari Substrat Bekatul*. Bioteknologi. 2(1): 21-26.
- Kwoseh, C., K., Darko, M., A., Adubofour, K. 2012. *Cassava starch-agar blend as alternative gelling agent for mycological culture media*. Bots. J. Agric. Appl. Sci. 2012. 8(1): 8-15.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Naim, N. 2016. *Pemanfaatan Bekatul Sebagai Media Alternatif untuk Pertumbuhan Aspergillus sp.* Media Analisis Kesehatan. 2(2): 1-6.
- Uthayasooriyan, M., et al. 2016. *Formulation of Alternative Culture Media for Bacterial and Fungal Growth*. Der Pharmacia Lettre. 8(1): 431-436.
- Waluyo, L. 2016. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press. Malang.

#### 6. Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini melalui skim penelitian dosen pemula.