

## Analisis Pertumbuhan Dan Pola Hemolisis Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Darah Kambing Jawa Dan Agar Darah Domba

Nur Intan Raodlotul Janah<sup>1\*</sup>, Umi Nihayatul Khusna<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup> Program Studi, Analisis Kesehatan, Politeknik Mitra Karya Mandiri Brebes

Open Access Freely Available Online

Dikirim: 11 April 2026

Direvisi: 24 April 2026

Diterima: 25 April 2026

\*Penulis Korespondensi:

E-mail:

[intanrj332@gmail.com](mailto:intanrj332@gmail.com)

### ABSTRAK

Blood agar merupakan media kultur mikrobiologi yang digunakan untuk mengamati pertumbuhan serta pola hemolisis bakteri, khususnya *Staphylococcus aureus*. Media ini umumnya menggunakan darah domba karena mampu menunjukkan pola hemolisis dengan jelas. Namun, keterbatasan ketersediaan dan tingginya biaya di Indonesia menjadi kendala dalam penggunaannya. Oleh karena itu, darah kambing Jawa berpotensi digunakan sebagai alternatif karena ketersediaannya yang melimpah di Indonesia, mudah diperoleh, serta lebih ekonomis. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan dua perlakuan dan tiga kali pengulangan. Tahapan meliputi defibrinasi darah, pembuatan media, inokulasi *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), serta pengamatan morfologi koloni, jumlah koloni, pola hemolisis, dan diameter zona hemolisis. Hasil menunjukkan morfologi koloni seragam (circular, tepi entire, elevasi convex) dan 100% isolat menghasilkan hemolisis  $\beta$  pada kedua media. Analisis statistik menggunakan uji Mann-Whitney menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,487 pada jumlah koloni dan 0,637 pada diameter zona hemolisis ( $p > 0,05$ ), yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antara kedua media. Dengan demikian, darah kambing Jawa memiliki kemampuan sebanding dengan darah domba dalam mendukung pertumbuhan dan aktivitas hemolisis *S. aureus*, sehingga berpotensi sebagai alternatif media blood agar yang lebih ekonomis.

**Kata kunci:** blood agar, darah kambing Jawa, *Staphylococcus aureus*, hemolisis

### ABSTRACT

Blood agar is a microbiological culture medium used to observe bacterial growth and hemolytic patterns, particularly *Staphylococcus aureus*. This medium commonly uses sheep blood because it clearly demonstrates hemolysis. However, limited availability and high costs in Indonesia pose challenges to its use. Therefore, Javanese goat blood has potential as an alternative because of its abundant availability in Indonesia, ease of access, and lower cost. This study used an experimental design with two treatments and three replications. The procedures included blood defibrination, medium preparation, inoculation of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), and observation of colony morphology, colony count, hemolysis pattern, and hemolysis zone diameter. The results showed uniform colony morphology (circular shape, entire margin, convex elevation) and 100% of isolates exhibited  $\beta$ -hemolysis on both media. Statistical analysis using the Mann-Whitney test showed significance values of 0.487 for colony count and 0.637 for hemolysis zone diameter ( $p > 0.05$ ), indicating no significant difference between the two media. Thus, Javanese goat blood demonstrates comparable performance to sheep blood in supporting the growth and hemolytic activity of *S. aureus*, suggesting its potential as a more economical alternative for blood agar media.

**Keywords:** blood agar, Javanese goat blood, *Staphylococcus aureus*, hemolysis

### PENDAHULUAN

*Staphylococcus aureus* adalah jenis bakteri yang dapat menjadi penyebab berbagai macam penyakit pada manusia. Penyakit yang ditimbulkannya berkisar dari yang ringan, seperti

infeksi kulit berupa bisul, impetigo, dan abses, hingga yang lebih serius, seperti pneumonia, endokarditis, sepsis, dan keracunan makanan akibat toksin yang dihasilkannya (Sree, 2025). Bakteri ini berbentuk kokus, gram positif,

tersusun seperti anggur, bersifat non-motil, tidak membentuk spora, dan mampu hidup baik dalam kondisi aerob maupun anaerob. Selain itu, *S. aureus* bersifat katalase dan koagulase positif serta mampu membuat berbagai zat berbahaya seperti hemolisin, leukosidin, dan enterotoksin. Salah satu ciri khas *Staphylococcus aureus* pada media blood agar adalah kemampuannya menghasilkan hemolisis  $\beta$  yang jelas, sehingga media ini sangat penting dalam proses identifikasi bakteri tersebut (Silva-Santana, 2025).

*Blood Agar* merupakan media kultur bakteri yang umum digunakan untuk pertumbuhan dan pengamatan pola hemolisis bakteri, khususnya bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*. Media ini umumnya dibuat menggunakan darah mamalia, seperti darah domba, sapi, atau manusia, karena menyediakan nutrisi penting dan hemoglobin yang memungkinkan pengamatan hemolisis  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\gamma$  secara jelas. Hemolisis pada *S. aureus* merupakan indikator penting dalam identifikasi dan karakterisasi bakteri ini (Dayu, Turista and Puspitasari, 2019). Hemolisis pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah hemolisis  $\beta$ , yang menjadi indikator penting dalam identifikasi dan karakterisasi bakteri ini (Aziz et al., 2023).

Dalam praktik laboratorium, darah domba merupakan standar emas untuk media *blood agar*, namun ketersediaannya di Indonesia terbatas dan harganya relatif tinggi sehingga mendorong penggunaan alternatif seperti darah kambing. Berbagai studi menunjukkan bahwa darah kambing dapat menggantikan darah domba pada media *blood agar* karena memiliki karakteristik pertumbuhan bakteri aerob dan anaerob serta morfologi koloni yang serupa, termasuk pola hemolisis yang identik pada  $\beta$ -hemolytic streptococci, meskipun terdapat variasi minor pada ukuran zona hemolisis (Anand et al., 2000). Temuan ini diperkuat oleh (Dilrukshi et al., 2018) yang menyatakan bahwa darah kambing memiliki performa yang sebanding dengan darah domba karena kandungan hemoglobin, protein, dan faktor pertumbuhan yang memadai untuk mendukung pertumbuhan bakteri patogen. Kesamaan tersebut dapat dijelaskan secara biologis karena kambing (*Capra hircus*) dan domba (*Ovis aries*) termasuk dalam famili Bovidae yang memiliki kedekatan genetik dan kesamaan dalam struktur populasi ternak (Sulastri & Hamdani, 2018). Selain itu, darah kambing terdiri atas eritrosit, leukosit, trombosit, dan plasma yang kaya hemoglobin, protein, mineral, dan nutrisi penting (Jayatno et al., 2025; Tana et al., 2018). Komponen tersebut

relevan dengan kebutuhan *Staphylococcus aureus* terhadap besi untuk pertumbuhan, di mana hemoglobin menjadi sumber utama besi dan dimanfaatkan melalui sistem Isd (*Iron-regulated Surface Determinant*) untuk pengambilan heme dan transport besi ke dalam sel (Pishchany et al., 2024).

Hemoglobin dalam eritrosit menyediakan sumber zat besi yang krusial bagi pertumbuhan *S. aureus*, sementara protein dan glukosa dalam plasma mendukung metabolisme dan proliferasi bakteri (Pishchany et al., 2024). Selain itu, membran sel darah merah yang kaya lipid, terutama fosfolipid dan kolesterol, rentan terhadap toksin yang diproduksi *Staphylococcus aureus*, seperti  $\alpha$ -hemolisin dan peptida sitolitik PSM $\alpha$ , yang membentuk pori pada membran, merusak struktur sel, dan menghasilkan pola hemolisis  $\beta$  yang terlihat jelas pada media agar darah (Goldmann et al., 2024; Nygaard et al., 2025). Berdasarkan kesamaan komposisi ini, darah kambing secara teoritis dapat memberikan dukungan nutrisi yang setara dengan darah domba dalam media blood agar, menjadikannya alternatif yang layak untuk pertumbuhan dan pengamatan hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus*.

Populasi kambing di Indonesia terutama kambing Jawa (kambing kacang) cukup melimpah dan tersebar di berbagai daerah pedesaan serta peternakan rakyat, sehingga berpotensi menjadi alternatif sumber daya yang lebih terjangkau dan aman secara lokal. Pulau Jawa sendiri memiliki sekitar 9,67 juta ekor kambing dari total  $\pm 15,82$  juta ekor kambing nasional atau sekitar 61,1% dari populasi kambing Indonesia (Shahibah, 2025) dan laporan Universitas Gadjah Mada juga menunjukkan bahwa kambing merupakan salah satu ternak yang produktif serta banyak dimanfaatkan di masyarakat (Nugroho, 2025). Meskipun demikian, potensi darah kambing Jawa sebagai alternatif media *blood agar* masih belum banyak diteliti, karena sebagian besar studi sebelumnya menggunakan darah kambing non-lokal dari luar negeri. Hingga saat ini belum terdapat penelitian yang secara khusus mengevaluasi darah kambing lokal Indonesia, seperti kambing Jawa atau kambing kacang, sebagai pengganti darah domba pada media *blood agar* untuk *Staphylococcus aureus*. Hal ini menjadi gap penelitian penting yang memungkinkan pengembangan media kultur yang lebih terjangkau, mudah diperoleh dan aman secara lokal, sekaligus mempertahankan efektivitas pertumbuhan koloni dan pengamatan hemolisis. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas

media blood agar berbasis darah kambing Jawa dalam pertumbuhan koloni dan pola hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga dapat menjadi solusi praktis dan ekonomis di laboratorium mikrobiologi.

## **METODE**

### **Jenis dan Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan dengan dua perlakuan dan tiga ulangan. Penelitian bertujuan untuk menganalisis pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media darah kambing Jawa dan media agar darah domba sebagai kontrol.

### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan pada 28 Februari - 4 Maret 2026. Tempat penelitian yaitu Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Mitra Karya Mandiri Brebes

### **Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media agar darah kambing Jawa dan media agar darah domba. Sampel penelitian adalah koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada masing-masing media setelah inkubasi selama 24 dan 48 jam pada suhu 37°C, yang diperoleh dari hasil inokulasi suspensi bakteri dengan standar McFarland 0,5%.

### **Alat dan Bahan**

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi autoklaf, inkubator, laminar air flow (LAF), lampu spiritus, ose steril, cawan petri steril, tabung reaksi, pipet tetes dan pipet ukur, timbangan analitik, vernier caliper, erlenmayer, batang pengaduk kaca, aluminium foil, plastik wrap, kapas alkohol, tissue serta perlengkapan pendukung lainnya. Bahan yang digunakan terdiri atas media *blood agar base* (Merck) sebanyak 8 gram, aquadest steril, darah domba defibrinasi dan darah kambing Jawa defibrinasi masing-masing sebesar 5 % (v/v), kultur murni *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), larutan NaCl 0,9% steril. Etanol dan larutan standar McFarland 0,5%.

### **Prosedur Penelitian**

**Pembuatan Media Agar Darah Kambing Jawa dan Agar Darah Domba**

Darah kambing Jawa diperoleh melalui pengambilan langsung dari vena jugularis menggunakan spuit steril 21G setelah area disterilkan dengan alkohol 70%. Darah ditampung dalam erlenmeyer steril yang berisi batang

pengaduk dan ditutup dengan aluminium foil serta plastic wrap. Defibrinasi darah kambing Jawa dilakukan dengan mengaduk secara perlahan menggunakan batang pengaduk yang terdapat dalam erlenmeyer selama sekitar 5–10 menit hingga terbentuk serabut fibrin. Selama proses pengadukan, serabut fibrin akan menempel pada batang pengaduk sehingga terpisah dari cairan darah.

Darah domba diperoleh dari UPM Store dalam bentuk defibrinated blood (siapa pakai dan steril) sehingga tidak dilakukan proses defibrinasi ulang. Darah disimpan pada suhu ±4°C hingga digunakan. Pembuatan media dilakukan dengan menimbang Media Blood Agar Base (Merck) sebanyak 8 gram kemudian dilarutkan dalam aquadest sebanyak 100 mL dan dipanaskan hingga homogen, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15–30 menit. Setelah suhu media turun menjadi 45–55°C, darah kambing Jawa atau darah domba ditambahkan sebanyak 5% (v/v). Media kemudian dihomogenkan dan dituangkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 15–20 mL per cawan. Media diuji sterilitasnya dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

**Persiapan Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus***

**Pembuatan larutan Mc farland 0,5%**

Larutan McFarland 0,5 digunakan sebagai standar kekeruhan ( $\sim 1,5 \times 10^8$  CFU/mL) untuk menyesuaikan jumlah sel bakteri. Larutan dibuat dengan mencampur 50  $\mu$ L larutan barium klorida 1% ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) dengan 9,95 mL larutan asam sulfat 1% ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) hingga homogen.

Perbandingan suspensi bakteri dengan larutan MC farland 0,5%

Suspensi bakteri di bandingkan dengan kekeruhan standar larutan MC Farland 0.5 %. Jika kekeuh belum sesuai di tambahkan larutan PZ steril sampai mencapai kekeruhan yang sama dengan larutan standar.

**Inokulasi Bakteri**

Suspensi bakteri di inokulasi pada media agar kambing Jawa dan agar darah domba tanpa pengenceran serial, teknik yang digunakan adalah streak plate 4 zona. Tahap- tahap inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus*, ose steril dipijarkan di atas bunsen sampai memijar, dinginkan. Suspensi bakteri diambil satu ose dan ditanam pada media darah kambing Jawa dan media darah domba menggunakan metode streak plate empat zona. Media yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu 37°C di dalam inkubator selama 24 dan 48 jam.

**Pengamatan**

Pada pengamatan kultur bakteri setelah masa inkubasi selama 24 jam dan 48 jam, dilakukan pengamatan secara makroskopis untuk menilai karakter pertumbuhan pada media darah. Pengamatan meliputi penghitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada setiap media, pengukuran diameter zona hemolisis di sekitar koloni menggunakan pengaris berskala mm, penentuan jenis hemolisis ( $\alpha$ ,  $\beta$ , atau  $\gamma$ ), serta pengamatan morfologi koloni sebagai parameter pendukung identifikasi *Staphylococcus aureus*. Data yang disajikan merupakan hasil pengamatan akhir setelah 48 jam inkubasi, ketika karakter hemolisis terlihat optimal

Perhitungan koloni diameter zona hemolisis hanya koloni yang terpisah dan jelas. Hal ini dilakukan untuk memastikan jumlah koloni dapat dihitung dan diameter zona hemolisis dapat diukur dengan akurat, mengingat zona awal terlalu padat jika langsung ditanam dari perbandingan MC Farland 0,5%

### Teknik Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dari hasil perhitungan jumlah koloni, diameter zona hemolisis, jenis hemolisis, dan morfologi koloni. Pengamatan dilakukan pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam. Data jumlah koloni dan diameter zona hemolisis dicatat dalam tabel observasi untuk setiap ulangan dan perlakuan

### Morfologi Koloni

Berdasarkan Tabel 1, seluruh koloni bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan karakteristik morfologi yang seragam, yaitu berbentuk circular, tepi entire, elevasi convex, dan permukaan smooth.

### Teknik Analisis Data

Setiap perlakuan dilakukan tiga kali pengulangan (triplikat) untuk memastikan data lebih representatif. Hasil pengukuran dari tiga ulangan tersebut kemudian dihitung rata-ratanya untuk masing-masing perlakuan. Jumlah koloni dan ukuran diameter zona hemolisis *Staphylococcus aureus* dianalisis secara statistik. Sebelum dilakukan uji perbandingan, data numerik diperiksa normalitasnya menggunakan uji shapiro-wilk. Data yang berdistribusi normal kemudian dianalisis dengan uji Independent Samples t-test, sedangkan data yang tidak normal dianalisis menggunakan uji Man Withney. Sementara itu, parameter lain seperti jenis hemolisis ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) dan morfologi koloni ditampilkan secara deskriptif dalam bentuk frekuensi dan presentase untuk melihat pola pertumbuhan bakteri pada media darah Kambing Jawa dibandingkan dengan agar darah berbasis darah domba.

### HASIL

Penelitian ini bertujuan membandingkan efektivitas penggunaan darah domba dan darah kambing Jawa sebagai komponen *blood agar* terhadap pertumbuhan serta pola hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai alternatif media kultur yang praktis dan terjangkau di laboratorium mikrobiologi.

Tabel 1  
Hasil Pengamatan Morfologi

No.	Jenis Media	Identitas Sampel	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi	Permukaan
1.	BA Darah Domba	C-1D	Circular	Putih	Entire	Convex	Smooth
2.	BA Darah Domba	C-2D	Circular kecil	Putih cream	Entire	Convex	Smooth
3.	BA Darah Domba	C-3D	Circular	Putih cream	Entire	Convex	Smooth
4.	BA Darah Kambing Jawa	C-1K	Circular	Putih cream	Entire	Convex	Smooth
5.	BA Darah Kambing Jawa	C-2K	Circular	Putih	Entire	Convex	Smooth
6.	BA Darah Kambing Jawa	C-3K	Circular	Putih cream	Entire	Convex	Smooth

Warna koloni didominasi oleh putih dan putih krem.

Jumlah Koloni

Tabel 2  
Jumlah Koloni

No.	Media Agar Darah Domba			Media Agar Darah Kambing Jawa		
	C-1D	C-2D	C-3D	C-1K	C-2K	C-3K
1.						
2.	> (TNTC)	300 >300 (TNTC)	±45 Koloni	>300 (TNTC)	±140 Koloni	±40 Koloni
3.	<b>Rerata : 215 Koloni</b>			<b>Rerata : 160 Koloni</b>		

Berdasarkan data pada tabel IV. 2 Pada beberapa cawan, pertumbuhan koloni sangat banyak sehingga tidak dapat dihitung secara pasti

(TNTC) dan diasumsikan sebagai 300 koloni untuk keperluan analisis.  
Jenis Hemolisis

Tabel 3  
Jenis Hemolisis

No.	Jenis Media	Identitas Sampel	Jenis Hemolisis	Deskripsi visual zona
1.	BA Darah Domba	C-1D	$\beta$ - hemolisis	Zona bening besar dan jelas pada satu koloni dominan
2.	BA Darah Domba	C-2D	$\beta$ - hemolisis	Zona bening sempit pada koloni kecil
3.	BA Darah Domba	C-3D	$\beta$ - hemolisis	Zona bening jelas disekitar koloni
4.	BA Darah Kambing Jawa	C-1K	$\beta$ - hemolisis	Zona bening, besar jelas pada satu koloni, koloni lain kurang jelas karna terlalu padat
5.	BA Kambing Jawa	C-2K	$\beta$ - hemolisis	Bening, jelas mengelilingi koloni
6.	BA Darah Kambing Jawa	C-3K	$\beta$ - hemolisis	Zona bening sempit mengelilingi koloni

Berdasarkan Tabel 3, jenis hemolisis yang muncul pada media darah domba maupun agar darah kambing Jawa menunjukkan pola yang sama,

yaitu hemolisis  $\beta$  (beta) yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni.

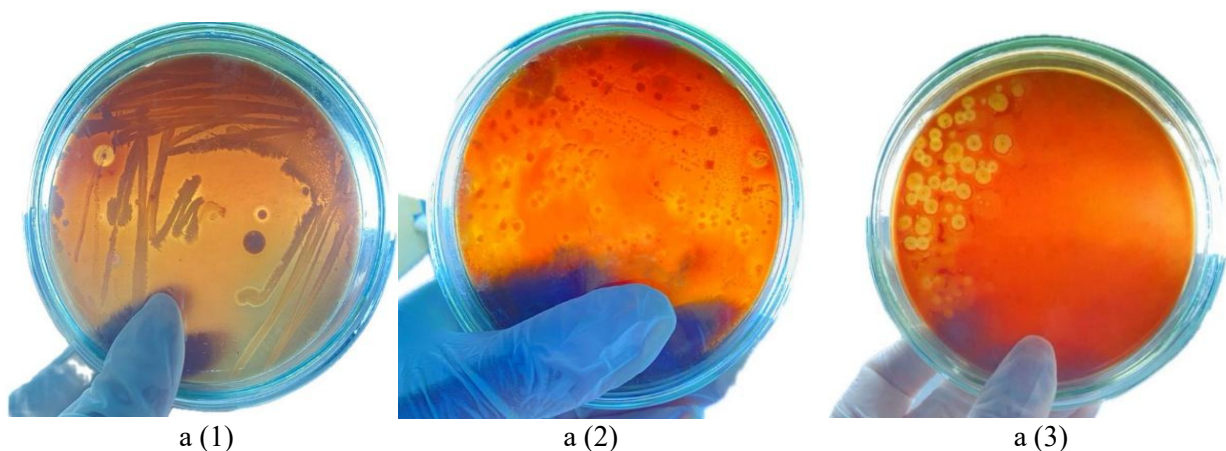
**Diameter Zona Hemolisis**

Tabel 4  
Hasil Pengamatan Diameter Zona Hemolisis (mm)

No.	Media Agar Darah Domba			Media Agar Darah Kambing Jawa		
	C-1D	C-2D	C-3D	C-1K	C-2K	C-3K
1.						
2.	0,3 mm	0,3 mm	0,3 mm	0,3mm	0,4 mm	0,5 mm
3.	<b>Rerata :0,3 mm</b>			<b>Rerata :0,4 mm</b>		

Berdasarkan Tabel 4, diameter zona hemolisis pada kedua media relatif serupa, meskipun media darah kambing Jawa menunjukkan rata-rata yang sedikit lebih besar dibandingkan darah domba. Uji normalitas Shapiro–Wilk menunjukkan data pada media darah

kambing Jawa berdistribusi normal ( $p = 1,000$ ), sedangkan darah domba tidak ( $p < 0,001$ ), sehingga analisis dilanjutkan dengan uji Mann–Whitney. Hasil uji menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok ( $p = 0,367$ ) (Tabel 5)





b (4)

b (5)

b (6)

Gambar 1. Koloni *Staphylococcus aureus* pada media agar darah domba (a) dan media agar darah kambing Jawa (b) Keterangan:

- 1 = C-1D (media agar darah domba, ulangan 1, inkubasi 48 jam)
- 2 = C-2D (media agar darah domba, ulangan 2, inkubasi 48 jam)
- 3 = C-3D (media agar darah domba, ulangan 3, inkubasi 48 jam)
- 4 = C-1K (media agar darah kambing Jawa, ulangan 1, inkubasi 48 jam)
- 5 = C-2K (media agar darah kambing Jawa, ulangan 2, inkubasi 48 jam)
- 6 = C-3K (media agar darah kambing Jawa, ulangan 3, inkubasi 48 jam)

### Hasil Normalitas Data

Sebelum uji perbedaan, dilakukan uji Shapiro-Wilk untuk memeriksa distribusi data, berikut hasil analisis distribusi data :

Jumlah koloni: Media darah domba tidak berdistribusi normal ( $p < 0,05$ ) karena adanya data TNTC (diasumsikan 300 koloni), sedangkan media darah kambing berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ).

Diameter zona hemolisis: Salah satu kelompok, yaitu media darah kambing, tidak berdistribusi normal ( $p < 0,05$ ).

Karena ada data yang tidak normal, uji selanjutnya menggunakan Mann-Whitney (non-parametrik) karena memberikan keunggulan dalam distribusi non-normal dibandingkan uji parametrik seperti t-test (Vickers, 2005).

### Hasil Uji Statistik Mann-Withney

Tabel 5  
Hasil Uji Statistik Mann-Withney

Variabel	Asymp. Sig (2-tailed)	Keterangan
Jumlah Koloni	0,487	Tidak signifikan
Diameter Zona Hemolisis	0,637	Tidak signifikan

Nilai signifikansi Asymp. Sig (2-tailed) pada jumlah koloni sebesar 0,487 dan diameter zona hemolisis sebesar 0,637. Kedua nilai tersebut lebih besar dari  $= 0,05$  ( $p > 0,05$ ) yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

### PEMBAHASAN

Blood agar adalah media pertumbuhan yang diformulasikan khusus untuk membantu identifikasi bakteri patogen dan banyak digunakan sebagai media standar dalam berbagai prosedur pemeriksaan mikrobiologi (Maulana & Wijayanti, 2023). Media ini termasuk dalam kategori media diperkaya (enriched media) karena mengandung nutrisi tambahan dari darah mamalia yang mendukung pertumbuhan bakteri fastidious, yaitu

bakteri yang memerlukan kondisi nutrisi tinggi, seperti *Streptococcus pneumoniae* dan *Haemophilus influenzae*, yang pertumbuhannya tidak optimal pada media nutrisi standar. Selain itu, media ini juga dikategorikan sebagai media diferensial, karena mampu membedakan jenis bakteri berdasarkan kemampuan enzimatik mereka dalam melisis sel darah merah, yang dikenal sebagai hemolisis (Karomah, 2026).

Salah satu bakteri yang paling sering digunakan dalam penelitian dengan media *Blood Agar Plate* adalah *Staphylococcus aureus*, karena kemampuannya menghasilkan hemolisis yang khas, yang menjadi indikator penting dalam identifikasi dan karakterisasi bakteri pada media darah (Nurhidayanti & Sari, 2022).

Dalam penelitian ini, morfologi koloni *Staphylococcus aureus* diamati sejak hari pertama,

dan pada pengamatan hari kedua morfologi koloni meliputi bentuk, tepi, elevasi, dan permukaan tidak menunjukkan perubahan. Kondisi ini menunjukkan bahwa bakteri telah berada pada fase stationer (stationary phase), sehingga pertumbuhan koloni tetap stabil dan morfologi konsisten sepanjang inkubasi. Pengamatan visual pada Gambar 1 mendukung data pada tabel 1-4. yang menunjukkan karakteristik pertumbuhan *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 48 jam, meliputi morfologi koloni, jumlah koloni, diameter zona hemolisis dan jenis hemolisis.

Berdasarkan uji frekuensi pada Tabel 1, seluruh isolat menunjukkan bentuk circular, tepi entire, elevasi convex, serta pertumbuhan koloni yang seragam, yang mengindikasikan keseragaman karakter morfologi antar isolat. Bentuk koloni ini dapat dijelaskan oleh pola pertumbuhan bakteri non-motil yang berlangsung secara lokal dari satu sel asal sehingga menghasilkan koloni yang cenderung simetris (Vassallo et al., 2019). Elevasi koloni yang cembung (*convex*) berkaitan dengan akumulasi biomassa akibat pertumbuhan sel bakteri yang membentuk lapisan bertingkat pada permukaan media agar. Permukaan koloni yang halus (*smooth*) mencerminkan pertumbuhan sel yang padat dan terorganisir dalam satu populasi yang homogen (Agarwal et al., 2022; Idrees et al., 2021).

Meskipun demikian, hasil uji frekuensi menunjukkan bahwa hampir seluruh parameter morfologi koloni bersifat seragam kecuali pada warna koloni. Variasi warna koloni pada *Staphylococcus aureus* dapat disebabkan oleh perbedaan tingkat ekspresi pigmen staphyloxanthin, yaitu karotenoid yang berfungsi melindungi bakteri dari stres oksidatif. Perbedaan intensitas warna antar strain mencerminkan variasi genetik dan fisiologis antar isolat (Campbell et al., 2023; Nosair et al., 2026). Oleh karena itu, meskipun sebagian besar karakter morfologi menunjukkan keseragaman, variasi fenotipik ringan pada warna koloni merupakan fenomena biologis yang wajar dan konsisten dengan literatur.

Selain karakter morfologi koloni, hasil uji frekuensi pada Tabel 3, media blood agar domba dan kambing Jawa menunjukkan bahwa seluruh isolat menghasilkan hemolisis  $\beta$  (beta) dengan persentase 100% yang menandakan tidak adanya variasi antar isolat. Temuan ini didukung oleh hasil pengamatan visual pada Gambar 1 yang menunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni sebagai karakteristik hemolisis  $\beta$ . Hemolisis pada media darah terjadi ketika bakteri *Staphylococcus*

*aureus* menghasilkan hemolisin, yaitu sebuah toksin yang merusak membran eritrosit sehingga menyebabkan lisis sel darah merah. Temuan ini menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki kemampuan hemolitik yang konsisten, sejalan dengan sifat biologis *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri patogen yang mampu menghasilkan eksotoksin hemolisin (Lai et al., 2026).

Selain karakter hemolisis, analisis juga dilakukan terhadap jumlah koloni yang tumbuh pada media darah domba dan darah kambing Jawa. Berdasarkan hasil uji frekuensi pada Tabel 2, jumlah koloni pada media darah domba cenderung lebih tinggi (diasumsikan 300 koloni/TNTC) dengan rerata 215 dibandingkan dengan media darah kambing yang memiliki rerata 160 koloni. Temuan ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa media darah domba mendukung pertumbuhan koloni lebih tinggi dibanding agar darah manusia kemungkinan karena kandungan nutrisinya yang lebih kaya (Nurhidayanti & Sari, 2022). Meskipun demikian, perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik (Mann-Whitney,  $p = 0,487$ ) yang tersaji pada Tabel 5, sehingga kedua jenis media dapat dianggap memiliki kemampuan yang serupa dalam mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Perbedaan statistik ini kemungkinan dipengaruhi oleh adanya data ekstrem berupa TNTC pada media darah domba, serta jumlah sampel yang terbatas sehingga distribusi data menjadi tidak normal. Oleh karena itu setelah dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk, beberapa data tidak memenuhi asumsi normalitas (mis. jumlah koloni pada darah domba), sehingga memerlukan uji non-parametrik seperti Mann-Whitney untuk membandingkan perbedaan antar kelompok.

Hasil Uji man withney menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan. Kondisi ini kemungkinan dipengaruhi oleh jumlah ulangan yang terbatas, yaitu hanya tiga kali pengulangan pada masing- masing perlakuan. Ukuran sampel yang kecil dapat menurunkan kekuatan uji statistik (*statistical power*), sehingga kemampuan uji dalam mendeteksi perbedaan nyata menjadi berkurang (Cohen, 1992a).

Pada parameter diameter zona hemolisis, diameter diukur pada hari kedua inkubasi (48 jam) untuk membandingkan kemampuan hemolisis *Staphylococcus aureus* dalam melisis sel darah pada dua jenis media darah yang berbeda. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik

untuk menentukan apakah perbedaan antara media darah kambing Jawa dan darah domba signifikan secara ilmiah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua media memiliki kemampuan hemolitik yang relatif serupa, meskipun secara deskriptif media darah kambing Jawa menunjukkan rata-rata diameter yang sedikit lebih besar dibandingkan media darah domba sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 4. Namun, berdasarkan hasil uji Mann-Whitney pada Tabel 5 perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik ( $p = 0,367$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua jenis media memiliki kemampuan yang setara dalam mendukung aktivitas hemolisis *Staphylococcus aureus*. Hasil ini diperkuat oleh pengamatan visual pada Gambar 1 (1-4) yang menunjukkan adanya zona hemolisis pada seluruh isolat.

Meskipun demikian, berdasarkan pengamatan visual pada Gambar 1, terdapat perbedaan pola distribusi hemolisis. Pada media darah domba, zona hemolisis tampak lebih jelas dan lebih merata meskipun memiliki diameter yang relatif lebih kecil, yang mengindikasikan kemampuan lisis yang konsisten terhadap seluruh koloni. Sebaliknya, pada media darah kambing Jawa, zona hemolisis terlihat lebih luas namun tidak merata pada seluruh area koloni, yang diduga dipengaruhi oleh kepadatan pertumbuhan koloni yang lebih tinggi (Steven & Bassler, 2012).

Salah satu faktor yang kemungkinan memengaruhi perbedaan kecil diameter zona hemolisis antara media darah kambing Jawa dan darah domba adalah kondisi eritrosit dalam sampel darah yang digunakan untuk membuat media. Darah domba diperoleh dari UPM Store dan dikirim melalui paket dengan ice gel selama sekitar empat hari. Berdasarkan hasil penelitian, darah utuh yang disimpan pada suhu dingin relatif stabil hingga sekitar tiga hari, namun perubahan mulai terjadi jika penyimpanan melebihi hari ketiga, meskipun dalam kondisi dingin (Wu et al., 2017).

Pada saat sampel diterima, kondisi ice gel sudah tidak lagi dingin sehingga darah domba tidak berada pada suhu penyimpanan yang optimal selama proses pengiriman. Kondisi suhu yang tidak terkontrol ini dapat mempercepat kerusakan atau perubahan bentuk eritrosit, yang secara biologis dapat memengaruhi integritas membran sel darah merah dan kemampuan sel untuk berinteraksi dengan bakteri dalam media. Fenomena ini sejalan dengan temuan literatur tentang *storage lesion* eritrosit, di mana perubahan metabolik dan struktural sel darah yang tersimpan lama dapat

memengaruhi fungsi normalnya (Nemkov et al., 2025).

Selain faktor kesegaran sampel darah, perbedaan hasil pada media agar darah kambing Jawa dan domba dapat dipengaruhi oleh variasi teknik inokulasi. Menurut (Fisher, 1935) konsistensi dalam teknik eksperimental merupakan faktor penting untuk memperoleh hasil yang akurat dan dapat diandalkan. Selain itu, variasi jumlah ulangan sampel yang digunakan lebih sedikit yang menyebabkan rendahnya kekuatan uji statistik (statistical power), sehingga kemampuan analisis dalam mendeteksi perbedaan antar kelompok menjadi kurang optimal. Akibatnya, perbedaan yang sebenarnya mungkin ada tidak dapat teridentifikasi secara signifikan (Cohen, 1992)

Secara umum, darah domba sering digunakan sebagai standar dalam uji hemolisis karena mampu menghasilkan zona hemolisis yang jelas dan konsisten (Yeh et al., 2009), sehingga variasi kecil yang terjadi pada penelitian ini dapat dipengaruhi oleh kombinasi faktor biologis dan teknis selama proses penelitian.

## **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap jumlah koloni dan diameter zona hemolisis. Hal ini ditunjukkan oleh hasil uji Mann-Whitney dengan nilai signifikansi (Asymp. Sig. 2-tailed) sebesar 0,487 pada jumlah koloni dan 0,637 pada diameter zona hemolisis ( $p > 0,05$ ). Dengan demikian,  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak, yang menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap pertumbuhan koloni maupun aktivitas hemolisis. Meskipun demikian, hasil yang tidak signifikan ini kemungkinan dipengaruhi oleh keterbatasan penelitian, seperti jumlah ulangan yang terbatas, perbedaan kondisi bahan, serta faktor teknis selama proses inokulasi.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Umi Nihayatul Khusna, M.Si. selaku dosen pembimbing atas bimbingan dan arahan yang diberikan dalam penyusunan jurnal ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada kedua orang tua atas doa dan dukungannya, serta kepada teman-teman yang telah membantu selama proses penelitian. Semoga segala bantuan yang diberikan mendapatkan balasan yang setimpal.

## REFERENSI

- Agarwal, A. N., Dallas, S. D., & Mais, D. D. (2022). Sensitivity and Specificity of a Novel Colony Characteristic for Determination of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Cureus*, 14(6), 2–7. <https://doi.org/10.7759/cureus.26040>
- Anand, C., Gordon, R., Shaw, H., & Fonseca, K. (2000). Pig and Goat Blood as Substitutes for Sheep Blood in Blood-Supplemented Agar Media. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(2), 591–594.
- Aziz, F., Fitriana, F., Setyorini, D. R., Putri, S. A., Maulina, T. R., Dewi, V. K., & Prihanan, N. I. (2023). Karakterisasi Fenotipik Kemampuan Hemolisa Isolat *Staphylococcus aureus* Asal Susu Kambing Mastitis dan Daging Ayam Segar. *Jurnal Ilmu Peternakan Dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science)*, 13(3), 129–136. <https://doi.org/10.46549/jipvet.v13i3.393>
- Campbell, A. E., McCreedy-vangi, A. R., Uberoi, A., Planet, P. J., Gardner, S. E., & Grice, E. A. (2023). Article Variable staphyloxanthin production by *Staphylococcus aureus* drives strain-dependent effects on diabetic wound-healing outcomes Variable staphyloxanthin production by *Staphylococcus aureus* drives strain-dependent effects on diabetic wound-healing. *Cell Reports*, 42, 113281. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113281>
- Cohen, J. (1992a). A power primer. *Psychological Bulletin*, 112(1), 155–159. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.112.1.155>
- Cohen, J. (1992b). Statistical power analysis. *Current Directions in Psychological Science*, 1(3), 98–101. <https://doi.org/10.1111/1467-8721.ep10768783>
- Dilrukshi, G. N., Jayewardane, U. N., Sajidha, F., & Dissanayake, D. M. B. T. (2018). Human, cattle and goat blood as substitutes for sheep blood in blood-supplemented culture media. *Sri Lankan Journal of Infectious Diseases*, Vol.8(November 2017), 12–24. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4038/sljid.v8i1.8163>
- Fisher, R. A. (1935). *The Design of Experiments*. Oliver and Boyd. <https://archive.org/details/in.ernet.dli.2015.502684/page/n266/mode/1up>
- Goldmann, O., Lang, J. C., Rohde, M., May, T., Molinari, G., & Medina, E. (2024). Alpha-hemolysin promotes internalization of *Staphylococcus aureus* into human lung epithelial cells via caveolin-1- and cholesterol-rich lipid rafts. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 81, 435. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s0018-024-05472-0>
- Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., & Rahman, A. (2021). *Staphylococcus aureus* Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(14), 7602. <https://doi.org/7602>. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147602>
- Jayatno, M., Yaddi, Y., & Bain, A. (2025). Profil Hematologi dan Glukosa Darah Kambing Peranakan Etawa Senduro yang Diberi Pakan Mengandung Sabun Kalsium Minyak Kedelai. *Jurnal Ilmiah Perternakan Halu Oleo*, 7(1), 99–107. <https://doi.org/10.56625/jipho.v7i1.50>
- Karomah, L. (2026). Blood Agar Plate (BAP): Definisi, Prinsip, dan Prosedur Pembuatan. *Mikrobio.Id*. <https://mikrobio.id/mikrobiologi/teknik-mikrobiologi/medium/media-agar-darah-blood-agar.html>
- Lai, Y., Kao, C., Wong, M. Y., Huang, T., Lin, Y., Chen, C., Huang, Y., Lai, Y., Kao, C., Wong, M. Y., Huang, T., Lin, Y., Chen, C., & Huang, Y. (2026). *Staphylococcus aureus* isolates from clinical patients. *American Society For Microbiology*, 14(1), 1–12. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01234-21>
- Maulana, M. R., & Wijayanti, M. (2023). Kualitas media agar darah manusia dan domba pada pertumbuhan *Streptococcus β hemolyticus*. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 6(1), 320–324. <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v5i2.4898>
- Nemkov, T., Isiksacan, Z., William, N., Senturk, R., Boudreau, L. E., Yarmush, M. L., Acker, J. P., D'Alessandro, A., & Usta, O. B. (2025). Supercooled storage of red blood cells slows down the metabolic storage lesion. *Scientific Reports*, 15, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-18028-4>
- Nosair, A. M., Abo-Kamar, A. M., Al-Madboly, L. A., Farghali, M. H., & Abdelaziz, A. A. (2026). *Staphylococcus aureus*'s golden-yellow pigment staphyloxanthin: production enhancement, analytical characterization, and biological attributes. *Microbial Cell*

- Factories, 25, 51.  
<https://doi.org/10.1186/s12934-025-02919-2>
- Nurhidayanti, & Sari, R. R. (2022). Perbedaan Karakteristik Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Domba dan Media Agar Darah Manusia. *Jurnal Analis Kesehatan*, 11(1), 30–34.  
<https://doi.org/10.26630/jak.v11i1.3202>
- Nygaard, T. K., Gao, A., Latray, E., & Voyich, J. M. (2025). Hemolysis of Human Erythrocytes by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Is Primarily Caused by PSM  $\alpha$  Peptides. *Toxins*, 17, 529.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/toxins17110529>
- Pishchany, G., Sheldon, J. R., Dickson, C. F., Alam, M. T., Read, T. D., Gell, D. A., Heinrichs, D. E., & Skaar, E. P. (2024). IsdB-dependent hemoglobin binding is required for acquisition of heme by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Infectious Diseases*, 209(11), 1764–1772.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1093/infdis/jit817>
- Shahibah, A. (2025). Jawa Timur jadi provinsi dengan jumlah kambing terbanyak 2025. GoodStats.  
<https://data.goodstats.id/statistic/jawa-timur-jadi-provinsi-dengan-jumlah-kambing-terbanyak-2025-hX15i>
- Silva-Santana, G. (2025). *Staphylococcus aureus*: Dynamics of pathogenicity and antimicrobial-resistance in hospital and community environments - Comprehensive overview. *Research in Microbiology*, 176(3–4).  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.resmic.2025.104267>
- Sree, N. U. (2025). A Review Article on *Staphylococcus Aureus*. *International Journal of Scientific Research and Management (IJSRM)*, 12(02), 1323-1328|. <https://doi.org/10.18535/ijprm/v13i02.mp02>
- Steven, R., & Bassler, B. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2(11).  
<https://doi.org/http://doi.org/10.1101/cshperspect.a012427>
- Sulastri, & Hamdani, I. (2018). Dasar Pemuliaan Ternak. Universitas Lampung.  
[http://repository.lppm.unila.ac.id/8333/1/DASAR\\_PEMULIAAN\\_TERNAK\\_kirim.pdf](http://repository.lppm.unila.ac.id/8333/1/DASAR_PEMULIAAN_TERNAK_kirim.pdf)
- Tana, S., Saraswati, T. R., & Yuniwanti, E. Y. W. (2018). Hematology and Blood Chemistry Status of Most Frequently Consumed Ruminants in Community. *Biosaintifika*, 10(2), 341–347.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v10i2.12714> Department
- Vassallo, L., Hansmann, D., & Braunstein, L. A. (2019). On the growth of non-motile bacteria colonies: An agent-based model for pattern formation. *European Physical Journal B*, 92(9), 199.  
<https://doi.org/10.1140/epjb/e2019-100324-5>
- Vickers, A. J. (2005). Parametric versus non-parametric statistics in the analysis of randomized trials with non-normally distributed data. 12, 1–12.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2288-5-35>
- Wu, D.-W., Li, Y.-M., & Wang, F. (2017). How Long can we Store Blood Samples: A Systematic Review and Meta-Analysis. *EBioMedicine*, 24, 277–285.  
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.09.024>
- Yeh, E., Pinsky, B. A., Banaei, N., & Baron, E. J. (2009). Hair Sheep Blood , Citrated or Defibrinated , Fulfills All Requirements of Blood Agar for Diagnostic Microbiology Laboratory Tests. *PLOS ONE*, 4(7), e6141.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006141>