PENGGUNAAN *Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar* (DRBC) SEBAGAI MEDIA TUMBUH KAPANG PADA PRODUK PERIKANAN

Ninoek Indriati*), Nandang Priyanto*), dan Radestya Triwibowo*)

ABSTRAK

Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) merupakan media yang umum digunakan untuk menganalisis jenis dan jumlah kapang pada produk makanan. Masalah yang sering dihadapi dengan penggunaan media ini adalah seringnya terjadi kegagalan dalam pengamatan morfologi dan penghitungan jumlah koloni kapang akibat tumbuhnya koloni yang menyebar sehingga menghambat atau menutupi koloni yang lain. *Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol* (DRBC) telah diperkenalkan sebagai media yang lebih baik untuk menganalisis jumlah kapang karena mengandung dikloran dan pewarna *rose bengal* untuk menahan pertumbuhan kapang yang menyebar. Namun demikian, informasi mengenai efektifitas penggunaan media ini pada produk perikanan masih terbatas. Dalam penelitian ini, DRBC digunakan untuk menganalisis kapang secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan beberapa jenis sampel produk olahan perikanan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media DRBC mampu mengurangi ukuran diameter koloni beberapa jenis kapang yang koloninya besar dan menyebar seperti *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., dan *Rhizopus* spp. tanpa menghambat dan mengurangi jumlah koloni tersebut. Untuk sampel ikan olahan kering, jumlah koloni kapang yang tumbuh pada media DRBC tidak berbeda nyata dengan yang tumbuh pada media PDA, tetapi untuk sampel ikan olahan semi basah yang umumnya didominasi oleh koloni yang besar dan menyebar, jumlah koloni kapang secara nyata lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah koloni pada media PDA. Berdasarkan hasil ini, DRBC disarankan untuk digunakan untuk menganalisis kapang pada produk olahan semi basah.

ABSTRACT: ***The use of Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) as a growth media for mold in fishery products. By: Ninoek Indriati, Nandang Priyanto and Radestya Triwibowo***

Potato Dextrose Agar (PDA) is a growth media commonly used in the analysis of kind and quantity of mold in food products. Problems are sometimes happened in using this kind of media due to the spreading of mold colony that suppress other colonies to grow, resulting in difficulties in morphological assessment as well as enumeration of the mold. Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) was found to be a better media for quantity analysis of mold since it contains dichloran and rose bengal that could prevent the growth of spreading colonies. However, the effectiveness of this media to be used in mold assessment in fishery products is still limited. In this study, DRBC media was used in qualitative and quantitative analysis of mold compared to PDA,using various kinds of processed fishery products. The result of the experiment revealed that DRBC media was able to reduce the diameter of the wide and spreading colonies of ***Aspergillus spp.****,* ***Mucor spp.*** *and* ***Rhizopus spp.*** *without inhibiting their quantity and growth. For dried fishery products, the number of colonies grown in both media of DRBC and PDA were not significantly different. However, for semi moist products which dominated by wide and spreading colonies, higher number colonies were assessed in DRBC than those in PDA media. Based on the result, the used of DRBC media is more applicable in quantitative analysis of mold in semi moist fishery product.*

KEYWORDS: ***PDA, DRBC, mold, processed fishery product***

PENDAHULUAN

Media yang umum digunakan untuk menganalisis kapang pada produk makanan termasuk yang diacu dalam metode SNI 2332.7.2009 (BSN, 2009) adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA). Masalah yang dihadapi dalam penggunaan PDA sebagai media untuk menghitung jumlah kapang adalah adanya pertumbuhan yang melebar pada jenis kapang tertentu hingga memenuhi cawan petri dan menghambat pertumbuhan kapang lain. Akibatnya, selain menyulitkan penghitungan koloni, jumlah yang terhitung juga tidak akurat karena adanya koloni yang terhambat pertumbuhannya. Hal ini terjadi terutama bila terdapat kapang-kapang yang sifat koloninya mudah menyebar seperti *Rhizopus* spp. dan *Mucor* spp. Kedua jenis kapang ini sangat umum dijumpai pada produk-produk perikanan olahan seperti ikan

*) Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, KKP;
E-mail: indriati_ninoek@yahoo.co.id

asap, pindang, maupun ikan asin (Indriati & Heruwati, 2009)

Kemungkinan lain yang menjadi penghambat pertumbuhan kapang dalam pengkulturan adalah adanya persaingan dengan bakteri meski media yang selektif untuk kapang telah digunakan. Pada awalnya, media pertumbuhan untuk kapang yang umum digunakan adalah PDA yang diberi asam, akan tetapi dewasa ini dikembangkan media dengan penambahan antibiotik yang menyebabkan pH-nya lebih tinggi sehingga memungkinkan lebih banyak jenis kapang yang tumbuh (King *et al*., 1979).

Bahan-bahan selektif seperti *acidulant*, pewarna, atau antibiotik telah banyak digunakan dalam isolasi dan penghitungan kapang untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Penambahan *acidulant* dan antibiotik pada media direkomendasikan untuk menghitung bakteri, sementara pewarna digunakan untuk media isolasi kapang pada makanan. Beberapa pewarna terutama *rose bengal*, dapat mengatasi masalah yang disebabkan oleh kapang yang pertumbuhannya menyebar, tetapi mungkin tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. *Dichloran* (*2,6-dichloro-4-nitroanilin*), baik digunakan sendiri-sendiri atau dikombinasikan dengan *rose bengal* diketahui sangat efektif menekan pertumbuhan kapang sehingga diameter koloninya tidak melebar. *Dichloran*, juga dikenal sebagai *dichloronitroaniline* (DCNA) adalah fungisida yang terdaftar untuk mengontrol kapang yang bersifat patogenik seperti *Botrytis*, *Monilia, Rhizopus*, *Sclerotinia*, dan *Sclerotium* pada tanaman pangan (Henson, 1981).

Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) adalah media yang dikembangkan oleh King *et al*. (1979) dan merupakan modifikasi dari *Rose-bengal-chloramphenicol (RBC) Agar* dari Jarvis (1973). Perbedaannya dengan RBC, media ini mengandung *dichloran* (0,002 g/L) dan *rose bengal* dengan konsentrasi separuhnya yaitu 0,025 g/L, dengan pH 5,6. Menurut Pitt & Hocking (1985) media yang paling cocok untuk menghitung jumlah kapang atau khamir adalah DRBC, karena dapat menekan pertumbuhan kapang yang melebar tanpa mempengaruhi germinasi dari sporanya.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan penggunaan DRBC dan PDA sebagai media untuk menghitung jumlah kapang pada produk perikanan.

BAHAN DAN METODE

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah beberapa jenis ikan olahan berupa produk kering yaitu: ikan asap, ikan asin (juhi), dendeng ikan, abon ikan, dan tepung ikan; serta ikan olahan semi basah yaitu: rusip, pindang, peda, ikan semi basah, dan terasi rebon yang belum dijemur. Sampel abon diperoleh dari pengolah di Boyolali, ikan asap cakalang dari pengolah di Manado, terasi dari pasar di Surabaya, sampel ikan pindang dan peda dari pasar di Jakarta, selebihnya adalah produk hasil penelitian yang dilakukan di Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jakarta.

Analisis jumlah kapang dilakukan dengan metode tuang (*pour plate*) dengan menggunakan media tumbuh DRBC dan PDA (*Oxoid*) yang ditambah dengan klorampenikol (BSN, 2009). Kedua media disterilisasi dahulu (suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit) dan dilakukan penambahan klorampenikol dengan konsentrasi akhir 0,01% (b/v). Suhu media saat siap untuk ditambah dengan klorampenikol dan dituangkan ke cawan petri adalah 45–60°C. Sampel seberat 10 gram ditimbang dan dihomogenisasi menggunakan 90 mL media *Butterfield phosphate water* (BPW). Analisis untuk masing-masing sampel dilakukan *duplo* dengan tingkat pengenceran 10^{-1}, 10^{-2}, dan 10^{-3} (BSN, 2009). Inkubasi sampel pada media DRBC dilakukan pada suhu 25°C selama 5 hari (King *et al*., 1979). Inkubasi pada media PDA dilakukan pada suhu 25°C selama 5–7 hari (BSN, 2009) agar kapang yang tumbuh dapat dibedakan dengan yeast. Untuk mengantisipasi kesulitan dalam penghitungan koloni dilakukan pengamatan dan penandaan awal terhadap koloni kapang yang tertutup oleh kapang lain yang pertumbuhannya menyebar sebelum hari ke-5. Namun demikian, penghitungan koloni dilakukan pada akhir masa inkubasi sesuai dengan jenis medianya.

Untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni yang tumbuh dilakukan penghitungan secara kuantitatif terhadap koloni kapang yang tumbuh pada kedua media dan diuji statistik menggunakan Uji T berdasarkan data dari 5 kali ulangan.

HASIL DAN BAHASAN

Produk Ikan Olahan Kering

Hasil perhitungan kapang pada sampel-sampel produk olahan kering dengan menggunakan kedua media tidak menunjukkan adanya perbedaan jumlah yang signifikan ($p>0,05$) (Tabel 1). Hal ini disebabkan tidak ditemukannya kapang yang tumbuh melebar dan menyebar seperti *Mucor* spp. dan *Rhizopus* spp. Kapang yang dihitung dari kedua media berasal dari pengenceran 10^{-1} karena jumlah yang tumbuh lebih banyak dan memenuhi syarat untuk perhitungan bila dibandingkan pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3}. Berdasarkan SNI.2332.7.2009 (BSN, 2009), syarat jumlah kapang yang dimasukkan ke dalam

Tabel 1. Rata-rata jumlah koloni kapang pada sampel ikan olahan kering (Log koloni/g)
Table 1. Average number of molds grown on dried processed fish (Log colonies/g)

Produk/*Products*	DRBC	PDA
Tepung ikan/*Fish meal*	0.574[a]	0.301[a]
Abon lele/*Shredded fish*	0.398[b]	0.243[b]
Juhi udang/*Dried shrimp*	0.829[c]	0.720[c]
Dendeng ikan/*Dried spiced fish*	1.161[d]	1.097[d]
Cakalang asap/*Smoked skipjack*	1.836[e]	1.699[e]

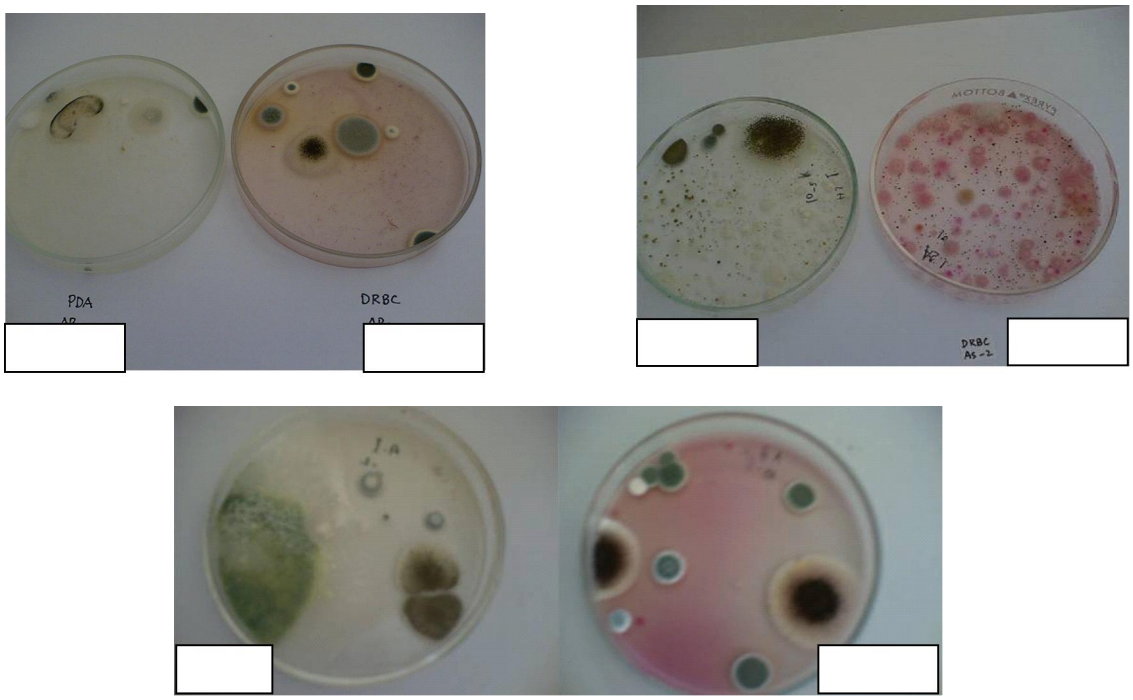
Keterangan/*Note*: Huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata (p>0,05)/*The same characters in the same rows indicate not significanly different (p>0.05)*

perhitungan harus berkisar antara 25–250 koloni per cawan.

Untuk produk olahan kering (abon ikan, ikan asap, dendeng, juhi, tepung ikan), jenis kapang yang tumbuh didominasi oleh *Aspergillus* spp. dan *Penicillium* spp. *Aspergillus* spp. membentuk koloni putih dengan spora hitam, sedangkan *Penicillium* spp. berupa koloni putih dengan spora hijau keabu-abuan. Jenis kapang yang berasal dari sampel dendeng ikan dan abon ikan pada media DRBC tampak berbeda, membentuk koloni yang lebih jelas dan terpisah satu sama lain dibandingkan dengan koloni pada media PDA (Gambar 1).

Produk Ikan Olahan Semi Basah

Hasil perhitungan statistik menunjukkan bahwa jumlah koloni kapang yang tumbuh pada media DRBC dibandingkan dengan media PDA berbeda nyata (p<0,05). Rata-rata jumlah koloni kapang pada media DRBC lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata jumlah koloni pada media PDA pada sampel semi basah (Tabel 2). Hal ini terjadi karena pada media PDA koloni kapang tumbuh menyebar dan menghambat koloni lainnya sehingga jumlahnya tidak sebanyak seperti pada media DRBC. Media DRBC mengandung *dichloran* (*2,6-dichloro-4-nitroanilin*), dimana *dichloran* secara sendiri maupun bersama-



Gambar 1. Koloni kapang yang berasal dari sampel olahan produk perikanan kering yang ditumbuhkan pada media yang berbeda.
Figure 1. The colonies of mold originated from dried processed fish grown on different media.

Tabel 2. Rata-rata jumlah koloni kapang pada sampel ikan semi basah (Log koloni/g)
Table 2. Average number of molds grown on semi moist processed fish (Log colonies/g)

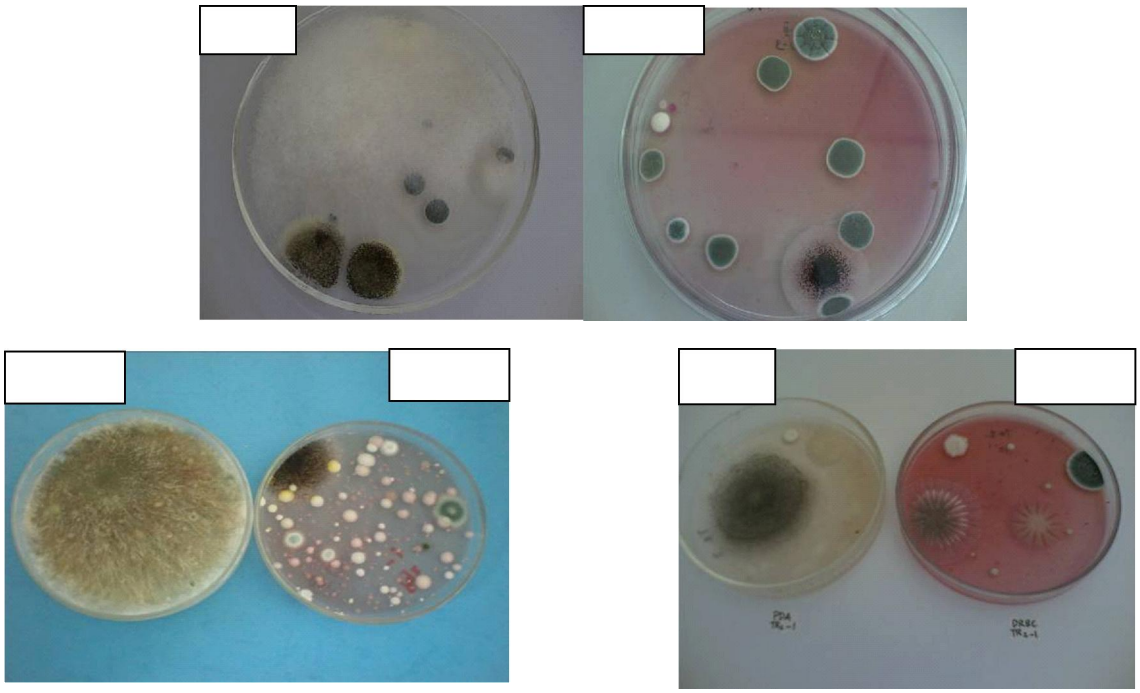
Produk/*Products*	DRBC	PDA
Rusip/*Fermented anchovies*	1.562[a]	1.466[b]
Ikan semi basah/*Semi moist fish*	1.267[c]	0.699[d]
Terasi rebon/*Fermented shrimp paste*	1.531[e]	1.161[f]
Peda ikan/*Salted fish*	0.778[g]	0.574[h]
Pindang ikan/*Salted boiled fish*	0.903[i]	0.477[j]

Keterangan/*Note*: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata (p<0,05)/*The different characters in the same rows indicate significanly different (p<0.05)*

sama dengan *rose bengal* dapat menghambat serta memperkecil diameter koloni kapang yang bersifat menyebar (*spreading*) dalam sampel makanan pada media untuk perhitungan kapang (Hocking & Pitt, 1980; Henson, 1981). Namun demikian, jumlah koloni yang tumbuh pada media tidak berkurang, hanya ukuran diameter yang mengecil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Andrews & Pitt (1986) bahwa penggunaan *dichloran* dengan dosis tertentu tidak memberikan efek yang nyata terhadap rata-rata pertumbuhan atau derajat perkembangan konidiogenesis pada *Aspergillus tenuis* pada media *peptone-based*.

Berbeda dengan sampel ikan olahan kering, pada sampel ikan olahan semi basah (ikan pindang, ikan semi basah, peda, rusip, dan terasi) kapang yang tumbuh didominasi oleh *Rhizopus* spp. Pada sampel jenis ini, jumlah dan jenis kapang yang tumbuh juga berbeda. Pada media PDA, kapang pada sampel ikan semi basah tumbuh menyebar memenuhi cawan petri dalam waktu kurang dari 5 hari, sedangkan pada media DRBC koloni kapang tumbuh terpisah satu sama lain sehingga mudah dihitung (Gambar 2). Media DRBC terbukti mampu mengurangi ukuran tanpa menghambat pertumbuhan koloni dari beberapa jenis kapang yang koloninya besar dan menyebar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Henson (1981), bahwa media enumerasi kapang yang bersifat asam mempunyai kelemahan antara lain melebarnya koloni.

Skaar & Stenwig (1996) menyatakan bahwa banyaknya warna pada koloni kapang yang tumbuh



Gambar 2. Koloni kapang yang berasal dari sampel produk olahan ikan semi basah yang ditumbuhkan pada media yang berbeda.
Figure 2. The colonies of mold originated from semi moist processed fish grown on different media.

pada media DRBC disebabkan oleh penggunaan *rose bengal* dan media tumbuh akan mengalami perubahan warna dari merah jambu (*pink*) ke warna violet pada daerah yang ditumbuhi kapang. Karena perubahan warna inilah, maka kapang yang tumbuh pada media DRBC akan lebih mudah dikenali dan dihitung dibandingkan dengan pada media PDA.

Untuk sampel yang sama, jenis kapang yang tumbuh pada media DRBC dan PDA kadang-kadang berbeda. Pada sampel pindang, kapang yang tumbuh pada media DRBC mempunyai diameter yang sedang, terpisah satu sama lain sehingga mudah untuk dihitung. Sedangkan pada media PDA koloni kapang yang tumbuh menyebar memenuhi seluruh permukaan cawan, mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan koloni lain. Gambar 2 menunjukkan beberapa koloni kapang yang berasal dari sampel terasi pada media DRBC dan PDA berbeda baik jenis maupun ukurannya. Koloni-koloni kapang yang berasal dari sampel-sampel makanan yang ditumbuhkan pada media DRBC dapat tumbuh secara seimbang (King *et al.*, 1979).

KESIMPULAN

- Dibandingkan dengan pertumbuhan pada media PDA, kapang yang tumbuh pada media DRBC lebih beragam bentuk dan warnanya sehingga mudah untuk diidentifikasi jenisnya.
- DRBC merupakan media yang lebih baik dibandingkan media PDA terutama untuk analisis jumlah kapang dari beberapa jenis sampel olahan ikan semi basah yang ditumbuhi kapang yang bersifat menyebar (*spreading*) seperti: *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., dan *Rhizopus* spp.
- Untuk menghitung jumlah kapang pada sampel ikan olahan kering dapat digunakan media PDA maupun DRBC, namun untuk identifikasi jenis kapang lebih baik menggunakan DRBC.

DAFTAR PUSTAKA

Andrews, S. and Pitt, J.I. 1986. Selective medium for isolation of fusarium species and *Dematiaceous hyphomycetes* from cereals. *Appl. Environ. Microbiol*. 51(6): 1235–1238.

BSN. 2009. SNI 2332.7.2009. *Cara Uji Mikrobiologi – Bag 7: Perhitungan Kapang dan Khamir pada Produk Perikanan*. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.

Henson, O.E. 1981. Dichloran as an inhibitor of mold spreading in fungal plating media : Effects on colony diameter and enumeration. *Appl. Environ. Microbiol*. 42(4): 656–660.

Hocking, A.D. and Pitt, J.I. 1980. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods. *Appl. Environ. Microbiol*. 39(3): 488–492.

Indriati, N. and Heruwati, E.S. 2009. Molds associated with Indonesian traditional fisheries product. *Indonesian Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology.* Jakarta.

Jarvis, B. 1973. Comparison of an improved rose bengal – chlortetracycline agar with other media for selective isolation and enumeration of molds and yeasts in foods. *J. Appl. Bacteriol.* 36(4): 723–727.

King, A.D., Hocking, A.D., and Pitt, J.I. 1979. Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. *Appl. Environ. Microbiol*. 37(5): 959–964.

Pitt, J.I. and Hocking, A.D. 1985. *Fungi and Food Spoilage*. Academic Press, Sydney. 36 pp.

Skaar, I. and Stenwig, H. 1996. Malt-yeast extract-sucrose agar, a suitable medium for enumeration and isolation of fungi from silage. *Appl. Environ. Microbiol*. 62(10): 3614–3619.