

Optimalisasi Media Edamame Agar Dengan Penambahan Ekstrak Daging Sapi Untuk Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis*

Nanik Andayani ^{*1}, Dian Nurhayati , Muhammad Djabir Saing

¹ Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Jember, Jl. Mastrip Kotak Pos 164 Jember

*dian_nurhayati@polije.ac.id

ABSTRAK

Edamame agar dibuat dengan tahapan yaitu pembuatan tepung edamame, pembuatan ekstrak dan pembuatan agar edamame. Penelitian dilakukan pada bulan Juni-September 2022, bertempat di Laboratorium Analisis Pangan Politeknik Negeri Jember. Tujuan penelitian yaitu Tentukan pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada agar edamame dengan menambahkan kaldu sapi dan siapkan SOP. Metode penelitian membandingkan pertumbuhan bakteri *Bacillus Subtilis* pada agar edamame dengan inkubasi agar nutrien. 24 dan 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* pada media dengan penambahan Ekstrak Daging Sapi 8 gram, 12 gram, 16 gram, 20 gram /liter dan media *Nutrien Agar* dengan masa inkubasi 24 jam adalah sama yaitu $3,0 \times 10^{13}$ cfu per ml. Sedangkan pada inkubasi 48 jam jumlah koloni yang tumbuh pada media dengan penambahan Ekstrak Daging Sapi 8 gram, 12 gram, 16 gram, 20 gram /liter adalah $1,6 \times 10^{14}$, $9,0 \times 10^{13}$, $7,0 \times 10^{13}$, $7,0 \times 10^{13}$ cfu/ml dan pada media NA $8,0 \times 10^{13}$ cfu/ml. Kesimpulan penelitian adalah media edamame agar dengan penambahan Ekstrak Daging Sapi mampu menumbuhkan bakteri *Bacillus subtilis* secara optimal. Bakteri *Bacillus subtilis* lebih cepat beradaptasi pada media edamame agar dengan penambahan Ekstrak Daging Sapi 8 gr dengan TPC $1,6 \times 10^{14}$ cfu/ml lebih tinggi dibandingkan dengan NA dengan TPC $8,0 \times 10^{13}$ cfu/ml.

Kata kunci — Edamame Agar, Ekstrak Daging Sapi, *Bacillus subtilis*

ABSTRACT

Edamame agar is made in stages, namely making edamame flour, making meat extract; and making edamame agar. The research was conducted from June to September 2022, at Food Analysis Laboratory Politeknik Negeri Jember. The aim of the study was to determine the growth of *Bacillus Subtilis* bacteria on edamame agar with the addition of Beef Extract and to make SOP. The research method was to compare the growth of *Bacillus Subtilis* bacteria on edamame agar with Nutrien agar for 24 and 48 hours of incubation. The results showed that the number of bacterial colonies of *Bacillus subtilis* in the media with the addition of beef extract 8 grams, 12 grams, 16 grams 20 grams/liter and Nutrient Agar media with an incubation period of 24 hours was the same, namely 3.0×10^{13} cfu/ml. Whereas at 48 hours of incubation the number of colonies that grew on the media with the addition of beef extract 8 grams, 12 grams, 16 grams 20 grams / liter was 1.6×10^{14} , 9.0×10^{13} , 7.0×10^{13} , 7.0×10^{13} cfu/ml and on NA media 8.0×10^{13} cfu/ml. The conclusion of the research was that edamame agar media with the addition of beef extract was able to grow *Bacillus Subtilis* bacteria optimally. Bacteria *Bacillus Subtilis* adapted more quickly to edamame agar media with the addition of 8 grams /liter Beef Extract with a TPC of 1.6×10^{14} cfu/ml higher than NA with a TPC of 8.0×10^{13} cfu/ml.

Keywords — : Edamame Agar, Beef Extract, *Bacillus Subtilis*

1. Pendahuluan

Medium adalah substrat yang dapat digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroorganisme. Media yang dibutuhkan mikroorganisme untuk tempat pertumbuhannya harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan. Menurut Cappucino, 2013 menyatakan bahwa nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan secara kuantitatif digunakan untuk perbanyakan dan perhitungan jumlah mikroorganisme adalah Carbon, Nitrogen, Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg dan Fe.

Media alternatif untuk pertumbuhan bakteri dapat memanfaatkan sumber alam yang melimpah, yang mudah didapat dan tidak memerlukan biaya yang mahal. Menurut Fitria dan Zulaika, 2018, mengatakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan bakteri dipengaruhi oleh faktor nutria dan faktor lingkungan.

Salah satu media yang dapat diasumsikan cocok untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* adalah edamame. Pernyataan ini didasari dari hasil penelitian sebelumnya bahwa edamame yang mengandung protein dan karbohidrat cukup tinggi dan bersifat netral (ph 6,49) dan mampu menumbuhkan bakteri *Bacillus subtilis* dengan jumlah *Total Plate Count* masih dibawah media *Nutrien Agar* (NA).

Kedelai jenis edamame memiliki keunggulan kandungan protein yang tinggi dan lengkap, dimana kandungan proteinnya 36% lebih tinggi dibandingkan kedelai lainnya. Grieshop et al, 2003 dalam Komala, Dela Ratna, 2019 Edamame mengandung bahan makanan yang mengandung komponen gizi kompleks yaitu asam folat 482 mega/100g, protein 16,9g/100g, lemak 18-32%, karbohidrat 12-30%. Menurut Johnson, et el. 1999 dalam Komala, Dela Ratna., 2019, Edamame mengandung vitamin A 100 mg, vitamin B1 0,27 mg, vitamin B2 0,14 mg, vitamin B3 1 mg dan vitamin C 27%, serta mineral seperti fosfor 140 mg, kalsium 70 mg, zat besi 1,7 mg dan potasium 140 mg dalam 100 g. dari edamame.

Menurut Azhar, 2016, bahwa protein berfungsi sebagai sumber nutrisi yang dibutuhkan oleh sel sebagai penyusun struktural sel itu sendiri. *Nutrien Agar* adalah salah satu

media yang menggunakan ekstrak daging dan protein sebagai sumber glukosa dan asam amino serta paling umum digunakan untuk menumbuhkan sebagian besar bakteri. *Nutrient Agar* adalah media berupa serbuk berwarna putih kekuningan yang memadat seiring pemakaian karena mengandung agar sebagai bahan pematat. Bahan utama dalam media ini adalah karbohidrat dan protein yang terkandung dalam ekstrak daging dan pepton sesuai kebutuhan sebagian besar bakteri..

Menurut Suryanie, 2005, dengan komposisi media ekstrak daging sapi 8 gram dan agar base 15gr dan 1000 ml akuades memberikan tingkat kesuburan yang sama untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dan media buatan terbaik terdapat pada kaldu sapi lokal dengan populasi bakteri $9,0 \times 10^7$ cfu/ml (Ari, 2019).

Pada penelitian ini digunakan daging sapi lokal sebagai ekstrak daging untuk penambahan nutrisi pada media edamame agar untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Hal ini dikarenakan menurut Nanik, dkk (2022) menyatakan bahwa penggunaan Agar media edamame berisi 15 gram komposisi tepung edamame dan agar agar 20 gram yang dilarutkan dalam 1 liter akuades dapat menumbuhkan bakteri *bacillus subtilis* $6,5 \times 10^{13}$ cfu/gram yang mana lebih besar jumlahnya dibanding dengan *E.coli* $4,0 \times 10^{13}$ cfu/gram. Komposisi tersebut dinilai masih belum optimal karena jumlah bakteri yang tumbuh lebih sedikit dibandingkan dengan media nutrien agar (NA). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengoptimalkan penggunaan media kombinasi tepung edamame sebagai sumber N nabati dan ekstrak daging sapi sebagai sumber N hewani untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan untuk membandingkan pertumbuhan bakteri *Bacillus Subtilis* pada media agar edamame dengan media agar nutria dengan waktu inkubasi 12, 24 dan 48 jam yang dilakukan pada bulan Juni 2022 di Laboratorium Analisis Pangan Politeknik Negeri Jember.



Tujuan dari penelitian ini adalah:

- Penentuan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada media agar edamame dengan penambahan kaldu sapi
- Pembuatan Standard Operating Procedure (SOP) produksi media agar dari edamame.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah agar (swallow point) edamame dan Mitratani 27, strain bakteri *Bacillus subtilis* yang diperoleh dari UGM, media agar nutrisi, Aquadest, alkohol.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah food saver (merek Harvest Saver, USA), autoclave (merk Webeco, Jerman), Laminer airflow (merk Thermo Scientific 1300 Seri A2, AS), Penghitung Coloni (merek Funke Gerber, Jerman), Inkubator (merek Memert, AS), Mikroskop (merk Olympus, Filipina), Mikropipet (merk Socorex, Swiss).

2.1. Prosedur Penelitian

2.1.1. Siapkan tepung edamame

Pembuatan tepung edamame meliputi proses blansing, pendinginan, pengupasan dan pengeringan dengan alat pengering pada suhu 60-70°C selama 12-14 jam. Edamame kering digiling dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh.

2.1.2. Sterilisasi alat dan bahan

Beberapa peralatan dan media yang digunakan dalam penelitian ini harus diautoklaf pada suhu 121°C selama 12 menit.

2.1.3. Persiapan bakteri

Bakteri yang digunakan adalah *Bacillus subtilis*, setelah itu bakteri tersebut diaktivasi dengan menumbuhkannya pada lingkungan nutrisi broth dan dikocok dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 55 °C selama 14 jam. Setelah aktivasi, suspensi bakteri diencerkan 10⁻⁴ hingga 10⁻¹³ menggunakan pengencer pepton-air buffer dan kemudian diinokulasikan ke media agar edamame. dengan penambahan ekstrak daging sapi dan *Nutrien Agar*.

2.1.4. Pembuatan media Nutrient Agar (NA).

Siapkan 20g media Nutrient Agar (Merck) yang dilarutkan dalam air suling, aduk rata dan panaskan dengan magnetic stirrer hingga larut (mendidih). Selain itu media nutrisi agar (NA) ditempatkan dalam tabung reaksi sebanyak 15 ml per tabung reaksi dan ditutup dengan kapas dan aluminium foil, setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

2.1.5. Persiapan kaldu sapi

Berat daging sapi adalah 0,5 kg. Bilas dengan air lalu buang lemaknya. Daging dipotong dadu, kemudian ditambahkan 1000 ml air suling dan dimasukkan ke dalam gelas kimia. Disimpan di kulkas selama 24 jam. Lemak yang dibuang mengambang di permukaan air. Suspensi disaring dengan kertas saring atau kain kasa halus, kemudian ditambahkan air suling hingga volume 1000 ml, kemudian direbus dalam panci selama 15-20 menit. Suspensi disaring dengan filter dan ditambahkan akuades hingga volume mencapai 1000 ml. Ekstrak daging yang sudah jadi kemudian disterilkan untuk mencegah kontaminasi. Pembuatan media *Edamame Agar* + ekstrak daging sapi .

Timbang tepung edamame dan masukkan ke dalam labu berbentuk kerucut, lalu tambahkan air suling sebanyak 15 gram per liter, aduk hingga rata, tambahkan agar-agar 20 gram per liter dan kaldu sapi sebanyak 8, 12, 16 dan 20 gram per liter ditambahkan. . Panaskan dengan magnetic stirrer hingga agar larut, uji pH. Masukkan 15 ml agar Edamame ke dalam tabung reaksi, tutupi dengan kapas dan aluminium foil dan autoklaf pada suhu 12° C selama 20 menit.

2.1.6. Pewarnaan Gram

Amati preparat yang sudah dicat gram dengan mikroskop dengan pembesaran kuat dengan minyak imersi. Jika bakteri Gram positif (+) akan berwarna ungu / violet dan bakteri Gram negatif (-) akan berwarna merah.

3. Pembahasan

Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 5 dan 6 menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* dapat tumbuh optimal pada konsentrasi media agar edamame. 1,5% tepung edamame



dengan penambahan ekstrak daging sapi 8gr, 12 gr, 16 gr dan 10 gr / liter dapat dilihat dari munculnya koloni bakteri *Bacillus subtilis*.

Perhitungan Hitung total bakteri menggunakan metode TPC (Total Plate Count), yaitu metode untuk memperkirakan jumlah total mikroorganisme dalam suatu bahan. Analisa *Total Plate Count* menggunakan media Plate Count Agar dengan cara menginokulasi 1 ml sampel hasil pengenceran ke dalam cawan Petri kemudian diinkubasi selama 24 jam (Zaki, 2012).

Hasil perhitungan koloni berupa coloni forming unit (cfu) per ml atau per gram. Perhitungan koloni dilakukan pada pengenceran 10^4 s/d 10^{13} . Koloni bakteri diletakan pada meja coloni counter, coloni counter diatur ke nol dan koloni bakteri dihitung dengan penunjuk sambil melihat layar hitungan. Hitung jumlah koloni dari 30 sampai 300 koloni (Damongila, 2009).

Tabel 1. Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtillis* Pada Media Edamame Agar Dengan Penambahan Ekstrak Daging Sapi Pada Inkubasi 24 Jam

Pengec ran <i>Bacillus</i>	Edamame Agar + ekstrak daging sapi (cfu per ml)				Nutrien Agar (cfu per ml)
	8 gr/lt	12 gr/lr	16 gr/lt	20 gr /lt	
$1/10^4$	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
$1/10^5$	5,3 x 10^6	5,1 x 10^6	3,5 x 10^6	7,6 x 10^6	1,6 x 10^7
$1/10^6$	1,1 x 10^7	1,7 x 10^7	1,0 x 10^7	1,0 x 10^7	2,8 x 10^7
$1/10^7$	5,0 x 10^7	5,0 x 10^7	1,3 x 10^8	5,0 x 10^7	1,0 x 10^7
$1/10^8$	3,0 x 10^8	6,0 x 10^8	2,0 x 10^8	3,0 x 10^8	2,7 x 10^9
$1/10^9$	3,0 x 10^9	5,0 x 10^9	2,0 x 10^9	4,0 x 10^9	1,0 x 10^{10}
$1/10^{10}$	4,0 x 10^{10}	3,0 x 10^{10}	1,2 x 10^{11}	4,0 x 10^{10}	2,0 x 10^{10}
$1/10^{11}$	5,0 x 10^{11}	3,0 x 10^{11}	2,0 x 10^{11}	7,0 x 10^{11}	2,0 x 10^{12}
$1/10^{12}$	4,0 x 10^{12}	2,0 x 10^{12}	3,0 x 10^{12}	8,0 x 10^{12}	2,0 x 10^{12}
$1/10^{13}$	3,0 x 10^{13}	3,0 x 10^{13}	3,0 x 10^{13}	3,0 x 10^{13}	3,0 x 10^{13}

Sumber: Data pribadi

Tabel 5 menunjukkan bahwa pada media edamame agar dengan penambahan ekstrak daging 8gr, 12 gr, 16 gr ,20 gr per liter dan media *Nutrien Agar* pada 24 jam lama inkubasi koloni *Bacillus subtilis* dapat tumbuh mulai pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-13} yang mana pada pengenceran 10^{-4} pertumbuhan koloni tidak bisa dihitung (TBUD). Dan pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-13} pertumbuhan koloninya dari masing-masing media berbeda jumlahnya , hal ini karena jumlah nutrisi berbeda dengan adanya penambahan jumlah ekstrak daging sapi yang berbeda yaitu 8gr, 12 gr, 16 grn dan 20 gr.

Tabel 2. Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtillis* Pada Media Edamame Agar Dengan Penambahan Ekstrak Daging Sapi Pada Inkubasi 48 Jam

Pengec n <i>Bacillus</i>	Edamame Agar + ekstrak daging sapi (cfu per ml)				Nutrien Agar (cfu per ml)
	8 gr /lt	12 gr/lt	16 gr /lt	20 gr/lt	
$1/10^4$	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
$1/10^5$	5,7 x 10^6	5,8 x 10^6	7,6 x 10^6	8,2 x 10^6	1,9 x 10^7
$1/10^6$	2,3 x 10^7	2,8 x 10^7	2,6 x 10^7	2,5 x 10^7	2,9 x 10^7
$1/10^7$	7,0 x 10^7	8,0 x 10^7	1,6 x 10^8	1,3 x 10^8	2,0 x 10^8
$1/10^8$	1,5 x 10^9	1,6 x 10^9	1,0 x 10^9	1,2 x 10^9	3,0 x 10^9
$1/10^9$	9,0 x 10^9	1,2 x 10^{10}	1,0 x 10^{10}	1,4 x 10^{10}	1,5 x 10^{10}
$1/10^{10}$	5,0 x 10^{10}	6,0 x 10^{10}	2,2 x 10^{11}	9,0 x 10^{10}	5,0 x 10^{11}
$1/10^{11}$	7,0 x 10^{11}	5,0 x 10^{11}	6,0 x 10^{11}	1,0 x 10^{12}	2,1 x 10^{12}
$1/10^{12}$	7,0 x 10^{12}	6,0 x 10^{12}	8,0 x 10^{12}	2,1 x 10^{13}	4,0 x 10^{13}
$1/10^{13}$	1,6 x 10^{14}	9,0 x 10^{13}	7,0 x 10^{13}	7,0 x 10^{13}	8,0 x 10^{13}

Sumber: Data pribadi

Tabel 6 diatas menunjukkan bahwa koloni bakteri *Bacillus subtilis* pada media edamame agar dengan penambahan ekstrak daging sapi 8 gr, 12 gr, 16 gr dan 20 gr /liter serta *Nutrien Agar* mengalami kenaikan jumlah koloni pada



pengenceran 10^{-4} sampai dengan 10^{-13} pada lama inkubasi 48 jam. Pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada pengenceran 10^{-5} s/d 10^{-12} pada media edamame agar dengan penambahan ekstrak daging 8 gr, 12 gr, 16 gr dan 20 gr/liter rata-rata jumlah koloninya masih di bawah media nutrien agar, yang mana jumlah koloni yang tumbuh pada media *Nutrien Agar* yaitu $1,9 \times 10^7$, $2,9 \times 10^7$, $2,0 \times 10^8$, $3,0 \times 10^9$, $1,5 \times 10^{10}$, $5,0 \times 10^{11}$, $2,1 \times 10^{12}$, $4,0 \times 10^{13}$. Sedangkan pada pengenceran 10^{-13} pada media *Nutrien Agar* jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* lebih sedikit dibandingkan dengan koloni yang tumbuh pada media edamame agar yaitu $8,0 \times 10^{13}$. Dan pada edamame agar dengan penambahan ekstrak daging 8 gr per liter jumlah koloninya $1,6 \times 10^{14}$ dan 12 gr jumlah koloninya $9,0 \times 10^{13}$.

Dilihat dari munculnya koloni bakteri jika dibandingkan dengan media *Nutrien Agar* menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* telah mampu beradaptasi terhadap lingkungan yang baru yang mana pada media edamame agar kandungan nutrisinya sesuai bagi bakteri *Bacillus subtilis* untuk digunakan, sehingga pertumbuhan yang terjadipun lebih optimal.

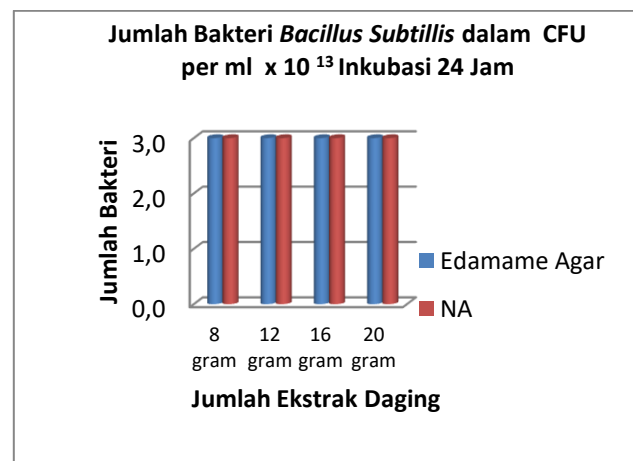
Tabel 3. Hasil Perhitungan Jumlah bakteri *Bacillus subtilis* 24 jam inkubasi

Media edamame agar + ekstrak daging sapi	Pengenceran <i>Bacillus subtilis</i>	Media Edamame Agar (cfu/ml)	Kontrol negatif	Nutrien Agar (cfu/ml)
8 gr /lt	10^{13}	$3,0 \times 10^{13}$	0	$3,0 \times 10^{13}$
12 gr/lt	10^{13}	$3,0 \times 10^{13}$	0	$3,0 \times 10^{13}$
16 gr/lt	10^{13}	$3,0 \times 10^{13}$	0	$3,0 \times 10^{13}$
20 gr/lt	10^{13}	$3,0 \times 10^{13}$	0	$3,0 \times 10^{13}$

Keterangan: Kontrol negatif: Media NA (*Nutrient Agar*) tanpa penambahan mikroba

Berdasarkan Tabel 7 dan Gambar 4 di atas terlihat bahwa koloni bakteri *Bacillus subtilis* tumbuh pada media agar edamame dengan penambahan ekstrak daging 8 gr, 12gr, 16 grn

dan 20 gr per liter pada pengenceran 10^{-13} yaitu $3,0 \times 10^{13}$ cfu per ml. Pada media *Nutrien Agar* bakteri *Bacillus subtilis* pada pengenceran 10^{-13} tumbuh dengan jumlah yang sama yaitu $3,0 \times 10^{13}$ cfu per ml. Tidak adanya perbedaan jumlah koloni yang tumbuh antara media edamame agar dengan *Nutrien Agar* karena bakteri *Bacillus subtilis* sudah mampu beradaptasi dengan lingkungan yang baru dan didukung dengan komposisi media pertumbuhan yang sesuai yang diinginkan oleh bakteri *Bacillus subtilis*. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan nutrisi pada media agar tepung edamame dengan penambahan ekstrak daging cukup baik dan sebanding dengan media *Nutrien Agar* dan bakteri *Bacillus subtilis* mampu beradaptasi dengan baik sehingga koloni bakteri dapat tumbuh dan berkembang dengan baik.



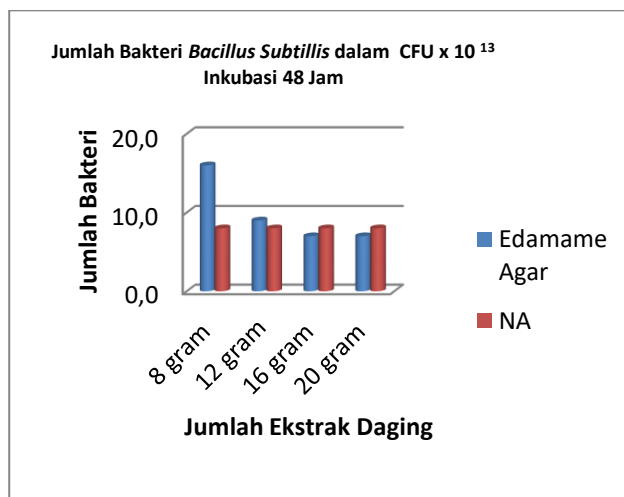
Gambar 1. Diagram hasil perhitungan Jumlah bakteri *Bacillus subtilis* (TPC)

Tabel 4. Hasil Perhitungan Jumlah bakteri *Bacillus subtilis* 48 jam inkubasi

Media edamame agar + ekstrak daging sapi	Pengen ceran <i>Bacillus subtilis</i>	Media Edamame Agar (cfu/ml)	Kontr ol negatif	Nutrien Agar (cfu/ml)
8 gr /lt	10 ¹³	1,6 x 10 ¹⁴	0	8,0 x 10 ¹³
12 gr/lt	10 ¹³	9,0 x 10 ¹³	0	8,0 x 10 ¹³
16 gr/lt	10 ¹³	7,0 x 10 ¹³	0	8,0 x 10 ¹³
20 gr/lt	10 ¹³	7,0 x 10 ¹³	0	8,0 x 10 ¹³

Keterangan:

Kontrol negatif: Media NA (Nutrient Agar) tanpa penambahan mikroba



Gambar 2. Grafik Hasil Perhitungan Jumlah bakteri *Bacillus subtilis* (TPC)

Berdasarkan tabel 8 dan gambar grafik 5 di atas menunjukan bahwa terdapat pertumbuhan koloni pada Media Edamame Agar dengan penambahan ekstrak daging 8 gr, 12gr, 16 gr dan 20gram per liter dengan masa inkubasi 48 jam dapat dilihat jumlah populasi bakteri *Bacillus subtilis* yaitu 1,6 x 10¹⁴, 9,0 x 10¹³, 7,0 x 10¹³ dan 7,0 x 10¹³ cfu per ml . Sedangkan pada media *Nutrien Agar* jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* yang tumbuh yaitu 8,0 x 10¹³ cfu per ml dan jumlah populasinya pada media *Nutrien Agar* lebih rendah dibanding dengan jumlah koloni Media Edamame Agar dengan penambahan ekstrak daging 8 gram per liter.

Perbedaan jumlah pertumbuhan bakteri disebabkan karena komposisi media edamame agar yang sesuai dengan lingkungan yang diinginkan oleh bakteri *Bacillus subtilis* sehingga jumlah koloninya lebih tinggi dibanding dengan *Nutrien Agar*.

Media pertumbuhan harus memiliki unsur yang diperlukan oleh mikroorganisme salah satunya yang terpenting adalah karbohidrat dan protein karena digunakan untuk proses sintesis oleh bakteri. Tepung edamame (*Glycine max* (L) Merr) memiliki Kandungan protein dan karbohidrat yaitu 56,90 gram protein dan 19,27 gram karbohidrat per 100 gram diharapkan memiliki potensi yang sama untuk digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri.

Selain itu, pH mempengaruhi pertumbuhan bakteri. pH merupakan salah satu faktor dominan dalam pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri patogen tidak dapat bertahan pada kondisi asam dan pH optimal pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* adalah 7-8 (Graumann, 2007). PH media Edamame Agar (*Glycine max* (L) Merr) sebelum sterilisasi adalah 6,72, sehingga ditambahkan basa. untuk membuat pH media edamame agar menjadi lebih netral dari medium agar nutrisi (NA) benar. Padahal jamurnya sangat enak tumbuh pada media dengan pH 5 sampai dengan 6. Apabila mikroba ditanam pada mendia pH 5 sampai dengan 6 maka pertumbuhan yang terjadi akan didominasi oleh jamur, tetapi apabila ditanam pada media pH 8 maka pertumbuhan didominasi oleh bakteri (Andrestian , 2018).

Pengamatan lebih lanjut terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada media edamame agar maupun media *Nutrien Agar* nutrient agar) menunjukkan bahwa media *Nutrien Agar* sebagai media standar dalam menumbuhkan bakteri menghasilkan jumlah koloni yang lebih rendah dibandingkan media tepung edamame.

Berdasarkan uraian di atas, jika dilihat jumlah bakteri yang tumbuh pada media edamame agar dengan penambahan ekstrak daging sapi hasil yang terbaik adalah pada media edamame agar dengan penambahan ekstrak daging sapi 8 gram per liter menunjukkan hasil yang optimal pada media tersebut. Hal ini dikarenakan kandungan nutrisi pada ekstrak daging sapi yang digunakan mengandung protein

yang tinggi menjadi sumber nitrogen yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri menurut Clausen (1985). Menurut Jawet, 2005 bahwa Salah satu nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba adalah nitrogen. Nitrogen ini bertindak sebagai protein pada manusia dan hewan, yaitu. sebagai zat pembangun dan pertumbuhan bagi tubuh. Sumber nitrogen ini berlimpah dalam bahan mentah kaya protein, dan pertumbuhan bakteri juga dapat dipengaruhi oleh tingkat nutrisi, suhu, dan ventilasi pusat.

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa komposisi daging sapi menunjukan nilai protein yang tinggi dan mikro nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme (Suarsana, 2016).

Tabel 5. Komposisi kimia daging sapi lokal per 100 gram

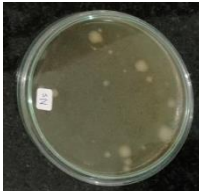

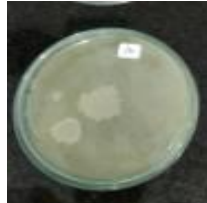


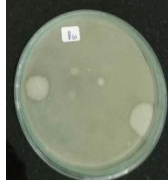
No	Kandungan Gizi	Jumlah (gr/100g)
1	Air	66
2	Kalori	207
3	Protein	18,8
4	Lemak	14,0
5	Kalsium	11,0
6	Besi	2,8
7	Retinol	1,5
8	Beta karotin ekuiv	5,0
9	Thiamin	0,08
10	Ribhoflavin	0,20
11	Niacin	5,0

Sumber: Suhardjo, dkk 1986:246

Pada media edamame agar dengan penambahan ekstrak daging sapi, menunjukkan hasil pertumbuhan koloni yang cukup optimal dan lebih banyak dibandingkan dengan *Nutrien Agar* insta. Berdasarkan uraian diatas media edamame agar dengan penambahan ekstrak daging sapi diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme (Suarsana, 2016) edmamme agar dengan penambahan ekstrak daging sapi 8 % per liter karena pertumbuhan populasi bakteri dikatakan baik dan koloninya besar serta mudah terlihat. Sehingga Media agar edmamme dengan tambahan kaldu sapi direkomendasikan

sebagai media alternatif untuk pertumbuhan bakteri.

Tabel 6. Penampakan Koloni Bakteri *Bacillus Subtillis* Yang Tumbuh Pada Media Edamame adengan penambahan ekstrak daging sapi dan *Nutrien Agar*.

Media Edamame Agar	Koloni Bakteri <i>Bacillus Subtillis</i>	
	24 Jam	48 jam
Nutrien Agar		
Penambahan ekstrak daging 8 gram per liter		
Penambahan ekstrak daging 12 gram per liter		

Tabel 10 memperlihatkan penampakan koloni yang tumbuh pada media agar edamame berwarna putih keruh, berukuran besar, bentuk tunggal, tepi tidak beraturan, dan mudah dilihat, meskipun koloni tidak padat karena media di sekitar koloni hampir sama. warna Sedangkan koloni pada media Nutrie Agar tampak putih kekuningan, besar dan seragam, tepi koloni tampak halus dan bersih, tegas dan mudah dilihat.

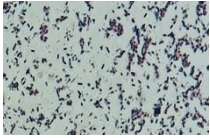
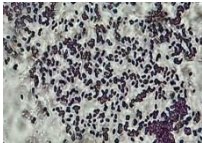
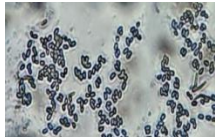

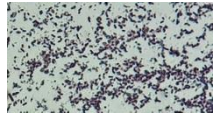
Perbedaan ini dikarenakan media Nutrient Agar sudah teruji secara klinis pertumbuhan bakteri baik untuk memungkinkan proses metabolisme bakteri bekerja maksimal, sedangkan media Edamame Agar masih mengandung nutrisi kompleks, sehingga pertumbuhan bakteri tidak seoptimal Nutrient Agar. Media massa..

Pada media dengan konsentrasi nutrisi yang tinggi, metabolisme bakteri bekerja dengan optimal, sehingga pembelahan sel berjalan

dengan baik, yang dapat memperbesar ukuran koloni bakteri.

Berdasarkan pengamatan pewarnaan Gram yang ditunjukkan pada Tabel 11, terlihat warna bakteri *Bacillus subtilis* yang ditumbuhkan pada media agar edamame dengan penambahan ekstrak daging sapi 8 gr, 12 gr, 16 gr dan 20 gr per liter dan media *Nutrien Agar* dengan lama inkubasi 48 jam.

Tabel 7. Pewarnaan Gram dihasilkan dari bakteri *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada agar edamame dan agar nutrisi

Media Edamame Agar	Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>
Nutrien Agar	
Media Edamame Agar Penambahan ekstrak daging 8 gram per liter	
Media Edamame Agar Penambahan ekstrak daging 12 gram per liter	
Media Edamame Agar Penambahan ekstrak daging 16 gr per liter	
Media Edamame Agar Penambahan ekstrak daging 20 gram per liter	

Hasil pewarnaan Gram berbentuk batang dan berwarna biru. Dan ini menunjukkan bahwa bakteri tumbuh pada media edamame dan media agar nutrisi adalah sama yaitu termasuk bakteri gram positif.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1. Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian dan hasilnya dianalisis maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- Dari hasil penelitian diketahui bahwa bakteri *Bacillus subtilis* dapat beradaptasi dengan cepat pada lingkungan baru dan tumbuh optimal pada media edamame-agar dengan menambahkan kaldu sapi per 8 liter.
- Dari hasil perhitungan TPC pada media edamame dengan penambahan ekstrak daging sapi 8 % diperoleh jumlah bakteri *Bacillus subtilis* $1,6 \times 10^{14}$ cfu per ml lebih banyak dibandingkan pada media *Nutrien Agar* jumlah bakteri *Bacillus subtilis* $8,0 \times 10^{13}$ cfu per ml. Berdasarkan uraian tersebut media edamame agar dengan penambahan ekstrak daging sapi dapat digunakan sebagai media alternatif untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* Alat yang paling efektif adalah media edamame agar dengan penambahan ekstrak daging sapi per liter karena pertumbuhan populasi bakteri dikatakan baik dan koloni besar serta mudah diamati. Sehingga media edamame agar dengan penambahan Kaldu sapi lebih direkomendasikan sebagai media alternatif pertumbuhan bakteri.
- Hasil pengecatan Gram menunjukkan bakteri *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media agar edamame dan media agar nutrisi menunjukkan hasil pewarnaan gram berbentuk batang dan berwarna biru termasuk bakteri gram positif.

4.2. Saran

Penelitian Optimalisasi Media Edamame Agar Dengan Penambahan Ekstrak Daging Sapi Untuk Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis* dalam rangka untuk mendukung kegiatan praktikum dapat disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap Media edamame agar sehingga tercapai komposisi media edamame agar yang sesuai dengan komposisi media yang dibutuhkan oleh bakteri. Dan untuk menghemat biaya hasil penelitian ini dapat

digunakan bagi laboratorium mikrobiologi umumnya.

4.3. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada direktur Ilmu Terapan Universitas Negeri Jember, direktur Jurusan Teknologi Pertanian, direktur Pusat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (P3M), Direktur Laboratorium Analisis Pangan, tim penguji, civitas akademika Universitas Ilmu Terapan Universitas Negeri Jember, dan semua pihak yang terlibat dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Aini, F.N., S. Sukamto, D. Wahyuni, R.G Suhesti, dan Q. Ayyunin. 2013.
- [2] Penghambatan pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. Jurnal Pelita Perkebunan 29(1): 44-52.
- [3] Ari,D.C.2018.Aplikasi Bakteri *Bacillus Subtillis* Dengan Dosis Yang Berbeda Terhadap Dinamika Fitoplankton Pada Tambak Intensif Udang Vaname. Jurusan Budidaya Perairan. Fakultas Pertanian.Universitas Muhamadiyah Makassar.2018
- [4] Azhar,M.2016. Biomolekul Sel Karbohidrat, Protein dan Enzim. Padang . UNP Press Padang.
- [5] Cappucino, JG and N.Sherman.1987. Microbiology, A Laboratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc. California USA.P.127-148.
- [6] Fitria,AN & E.Zulaika.(2018). Aklimatisasi pH dan Pola Pertumbuhan *Bacillus cereus* S1 Pada Medium MSM Modifikasi. Jurnal Sains dan Seni ITS. 7(2): E39-E41.
- [7] Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus Spp*. Oseana, 25(1): 31-41.
- [8] Komala, Dela Ratna,2019. Pengaruh perbandingan sari edamame dengan sari Black Mulberry dan konsentrasi penstabil terhadap karakteristik minuman edamuberry. Program studi Teknologi Pangan. Fakultas Teknik Univesitas Pasundan Bandung.
- [9] Rahayu,A.T.2015. Media Alternatif untuk pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat yang berbeda. Siminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS 2015
- [10] Rizky,WD.2013 Pengaruh Kandungan tepung bulu ayam sebagai Media pertumbuhan Bakteri *Esherichia coli*. Semarang. Jurusan analis Kesehatan, Poltekkes Semarang.
- [11] Rasyid,A, 2004, Beberapa catatan tentang agar, Oseanea,volume XXIX nomor 2, 2004. Pusat penelitian Oseanografi LIPI .Jakarta.
- [12] Suyono dan Susijohadi, 1994. Bercocok Tanam Edamame (vegetable Soybean). Fakultas Pertanian. Universitas Jember
- [13] Soeparno,2005. Ilmu dan Teknologi Daging. Gajah Mada Universty Press, Yogyakarta.
- [14] Suharjo,Harper,J.L, deaton.J.B dan Driskel,A.j.1986.Pangan, Giz dan Pertanian. Jakarta UI Press.
- [15] Suryanie.2000. Metode Pembuatan Media Pertumbuhan Kuman dari Ekstrak Daging Sapi. Media Kedokteran Hewan .Vol.15.No.5. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- [16] Soesanto, L. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman, Suplemen ke Gulma dan Nematoda. Rajawali Pers. 573 p.
- [17] United States Departemen Of Agriculture (2021), Plant Profile for Glycine max (soybean) .Plant home/USD.gov/NRCS (diakses pada 4 April 2021).
- [18] Wiwik Tyasningsih dan Suryanie.1999. Pembuatan Media Pertumbuhan Kuman dari Ekstrak Daging Sapi. Media Kedokteran Hewan .Vol.15.No.4. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- [19] NanikAndayani, Dian Nurhayati dan Muh. Djabir Saing. 2022. Optimalisasi Pertumbuhan Bakteri *E.coli* dan *Bacillus subtillis* pada media Media Edamame Agar . Jurusan Teknologi Pertanian. Politeknik Negeri Jember.
- [20] Jawet, E., Melnick, J.L & Adelberg,E,A. 2005. Mikrobiologi Kedokteran, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardono, L., Edosi XXII, 327-335, 362-363, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- [21] Suarsana,2016. Konsumsi daging Sapi Bali dan Pengaruhnya Pada Profil lipo Protein Plasma Tikus. Buletin Veteriner Udayana, (darin 0, 8(10:86-92
- [22] Zaki, I . 2012. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Mikrobiologi Biskuit Bayi Dengan Substitusi Tepung Labu Kuning (Cucrbita Moschata) Dan Tepung Ikan Patin (Pangasius Spp) Sebagai MP- ASI, (Tesis), Universitas Diponegoro.

