

## Efektivitas Media Edamame Agar Dengan Penambahan Polymyxin B Sebagai Media Selektif Alternatif Bakteri *Bacillus Subtilis*

*Effectiveness of Edamame Agar Media with the Addition of Polymyxin B As an Alternative Selective Media for Bacillus Subtilis Bacteria*

Nanik Andayani<sup>1</sup>, Dian Nurhayati<sup>2</sup>, Muhammad Djabir Saing<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Jember

Jl. Mastrap Kotak Pos 164 Jember

<sup>1</sup>nanik@polije.ac.id

<sup>2</sup>dian\_nurhayati@polije.ac.id

<sup>3</sup>djabirsaing@gmail.com

### ABSTRAK

Media selektif Edamame Agar dengan penambahan Polymyxin B dibuat bertahap yaitu pembuatan tepung edamame dan pembuatan edamame agar + Polymyxin B. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni – September 2023, bertempat di Laboratorium Analisis Pangan Politeknik Negeri Jember. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *Bacillus Subtilis* pada edamame agar dengan penambahan Polymyxin B dan membuat SOP. Metode penelitian dengan membandingkan pertumbuhan bakteri *Bacillus Subtilis* pada edamame agar dengan media Mannitol Egg yolk polymyxin Agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* pada media dengan penambahan Polymyxin B 0,6 %, 1,1 %, 1,6 % dan media Mannitol Egg yolk polymyxin Agar dengan masa inkubasi 48 jam adalah  $3,9 \times 10^5$ ,  $2,2 \times 10^5$ ,  $1,0 \times 10^5$  cfu/ml dan pada Mannitol Egg yolk polymyxin Agar  $3,5 \times 10^5$  cfu/ml. Pengujian kimia terhadap koloni yang tumbuh pada keempat media menunjukkan hasil sama yaitu Katalase positif, Fermentasi Laktosa negatif, Fermentasi Glukosa positif dan Voges Proskauer positif. Pengecatan gram menunjukkan bakteri *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media Edamame agar dan Mannitol Egg yolk polymyxin Agar diperoleh hasil bentuknya batang dan berwarna biru yaitu termasuk bakteri gram positif. Kesimpulan penelitian adalah media edamame agar dengan penambahan Polymyxin B mampu menghambat bakteri gram negatif dan menumbuhkan bakteri gram positif *Bacillus subtilis* secara optimal. Bakteri *Bacillus subtilis* yang tumbuh terbanyak pada media edamame agar dengan penambahan Polymyxin B 0,6% dengan TPC  $3,9 \times 10^5$  cfu/ml lebih tinggi dibandingkan dengan Mannitol Egg yolk polymyxin Agar dengan TPC  $3,5 \times 10^5$  cfu/ml.

**Kata kunci :** Edamame Agar Polymyxin B, MYP Agar, *Bacillus subtilis*

### ABSTRACT

Edamame Agar selective media with the addition of Polymyxin B was made in stages, namely making edamame flour and making edamame agar + Polymyxin B. The research was carried out in June – September 2023, at the Food Analysis Laboratory Politeknik Negeri Jember. The research aims to determine the growth of *Bacillus Subtilis* bacteria on edamame agar with the addition of Polymyxin B and create an SOP. The research method was to compare the growth of *Bacillus Subtilis* bacteria on edamame agar with Mannitol Egg yolk polymyxin agar media. The results showed that the number of *Bacillus subtilis* bacterial colonies in the media with the addition of Polymyxin B 0.6%, 1.1%, 1.6% with an incubation period of 48 hours was  $3.9 \times 10^5$ ,  $2.2 \times 10^5$ ,  $1,0 \times 10^5$  cfu/ml and in Mannitol Egg yolk polymyxin Agar  $3.5 \times 10^5$  cfu/ml. Chemical testing of colonies growing on the four media showed the same results, namely positive Catalase, negative Lactose Fermentation, positive Glucose Fermentation, and positive Voges Proskauer. Gram staining shows *Bacillus subtilis* bacteria growing on Edamame agar and Mannitol Egg yolk polymyxin agar media. The results obtained are rod-shaped and blue in color, which means they are gram-positive bacteria. The conclusion of the research is that edamame agar media with the addition of Polymyxin B is able to inhibit gram-negative bacteria and grow gram-positive bacteria *Bacillus subtilis* optimally. *Bacillus subtilis* bacteria grew the most on edamame agar media with the addition of 0.6% Polymyxin B with a TPC of  $3.9 \times 10^5$  cfu/ml, which was higher than on Mannitol Egg yolk polymyxin Jelly with a TPC of  $3.5 \times 10^5$  cfu/ml.

**Keyword:** Edamame Agar Polymyxin B, MYP Agar, *Bacillus subtilis*

 OPEN ACCESS

© 2019. Nanik Andayani, Dian Nurhayati, Muhammad Djabir Saing

## 1. Pendahuluan

Bakteri *Bacillus* sp mempunyai banyak potensi sebagai sumber daya hayati laut yang dapat menunjang bioteknologi bakteri laut, oleh karena itu sebaiknya dilakukan penelitian yang lebih intensif untuk mengembangkan bakteri ini hingga dapat menghasilkan bahan-bahan aktif yang bermanfaat.

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 nutri dan faktor lingkungan.

Salah satu media yang dapat diasumsikan cocok untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* adalah edamame. Pernyataan ini didasari dari hasil penelitian nanik, 2021 bahwa edamame yang mengandung protein dan karbohidrat cukup tinggi dan bersifat netral (pH 6,49) dan mampu menumbuhkan bakteri *Bacillus subtilis* dengan baik.

Kedelai jenis edamame memiliki keunggulan kandungan protein yang tinggi dan lengkap, dimana kandungan proteinnya mencapai 36% lebih tinggi di bandingkan kedelai

lain. Menurut Grieshop et al, 2003 dalam Komala, Dela Ratna, 2019 edamame termasuk makanan yang mengandung komponen gizi yang kompleks yaitu asam folat 482 mg/100 gr, Protein 16,9 g/100 gr, Lemak 18 – 32 %, karbohidrat 12 – 30 %. Menurut Johnson, et al. 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 – mineral seperti Fosfor 140 mg, Kalsium 70 mg, Besi 1,7 mg dan Kalium 140 mg dalam 100 gr edamame.

Menurut Azhar, 2016, bahwa protein berfungsi sebagai sumber nutrisi yang dibutuhkan oleh sel sebagai penyusun struktural sel itu sendiri. Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar (MYP 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. Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar (MYP Agar) merupakan media yang berbentuk serbuk berwarna putih kekuningan dan apabila setelah digunakan akan berbentuk padat karena terdapat kandungan agar sebagai pematatnya. Komposisi yang terpenting dalam media ini adalah karbohidrat dan protein yang terdapat pada ekstrak daging dan pepton sesuai dengan kebutuhan sebagian besar bakteri.

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

Pada penelitian yang menggunakan tepung edamame 15 gram, agar agar 20 gram dan ekstrak daging sapi lokal 8 gram dan yang dilarutkan dalam 1 liter aquadest dengan hasil perhitungan jumlah bakteri *Bacillus subtilis*  $1,6 \times 10^{14}$  cfu per ml yang mana lebih besar jumlahnya dibanding dengan media Nutrien agar  $8,0 \times 10^{13}$  cfu per ml (Nanik, 2022). Dari hasil penelitian tersebut menghasilkan komposisi media yang baik untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Oleh karena diperoleh komposisi media yang baik maka dilakukan penelitian ini untuk menjadikan media tersebut media selektif alternatif untuk bakteri *Bacillus subtilis* dengan penambahan suplemen Egg yolk emulsion dan polymyxin B.

## 2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan cara membandingkan pertumbuhan bakteri *Bacillus Subtilis* pada media edamame agar + polymyxin B dengan media Mannitol Egg yolk polymyxin Agar (MYP agar) dengan lama inkubasi 24 dan 48 jam yang dilaksanakan di lab Analisis Pangan Politeknik Negeri Jember pada bulan Juni sampai dengan September 2023.

Tujuan dari penelitian ini dilakukan adalah :



1. Untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *Bacillus Subtillis* pada selektif alternatif edamame agar yang ditambahkan polymyxin B
2. Membuat standart operasional prosedur (SOP) Pembuatan media selektif alternatif edamame agar yang ditambahkan polymyxin B.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah yaitu edamame diperoleh dari Mitratani 27 dan agar- agar (merk swallow ) , strain bakteri *Bacillus subtillis* diperoleh dari UGM, media MYP Agar, aquadest, alkohol.

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu dehirator ( merk Harvest saver ,USA ) , autoclave ( merk Webeco, Germany ) , Laminer airflow ( merk Thermo Scientific 1300 Series A2, USA), Coloni counter ( merk Funke Gerber, Germany), Inkubator ( merk Memert, USA, Mikroskop ( merk Olymplus, Philippines), mikro pipet ( merk Socorex,Swiss).

Penelitian dilakukan dengan cara membandingkan pertumbuhan bakteri *Bacillus Subtilis* pada media edamame agar + ekstrak daging 8 gram per liter + Polymyxin B dengan media Mannitol Egg yolk polymyxin Agar (MYP agar ) dengan lama inkubasi 24 dan 48 jam dan suhu 30°C.

## Prosedur Penelitian

### Persiapan alat

Siapkan alat uji kimia :Erlenmeyer, buret, pipet ukur , ball pipet pH meter, dan timbangan analitik.

Siapkan alat uji Mikrobiologi :Autoclave, Inkubator, Laminer airflow, Mikro pipet , Vortex mixer, Colony counter , Mikroskop, obyek glass, Deck glass,bunsen. Dan alat-alat gelas cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, tup mikro pipet dilakukan sterilisasi dengan autoclave 121°C selama 20 menit.

### Persiapan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media untuk aktivasi bakteri yaitu *Nutrien Broth* ( *NB* ) dan media untuk pertumbuhan bakteri yaitu *MYP agar* dan Edamame Agar + ekstrak daging dengan

konsentrasi 8 gr/liter ( hasil terbaik dari penelitian Nanik, 2022) + polymyxin B

Pembuatan media MYP Agar ( Mannitol Egg yolk polymyxin Agar )

Siapkan media Mannitol Egg yolk polymyxin Agar ( Merck ) sebanyak 23 gram dilarutkan kedalam aquadest 450 ml ,diaduk rata dan dipanaskan dengan menggunakan magnetic stirer sampai larut (mendidih ). Selanjutnya media Mannitol Egg yolk polymyxin Agar ditutup kapas dan alumunium foil , disterilisasi dengan autoclave 121°C selama 15 menit.

### Pembuatan media *Edamame Agar*

Menimbang tepung edamame 15 gram dan tepung agar – agar sebanyak 20 gram masukkan ke dalam erlenmeyer lalu tambahkan aquadest 1 liter, kemudian diaduk sampai homogen (menggunakan stirer magnetik ) . Selanjutnya dipanaskan dengan menggunakan water bath dengan suhu 100°C sambil dilakukan pengadukan sampai agar- agar larut ( mendidih ) dan tambahkan ekstrak daging sapi 8 gr sampai tercampur merata ( homogen ). Lakukan pengujian pH media dan jika pH kurang dari 7 tambahkan basa . Media edamame Agar ditutup kapas dan alumunium foil , disterilisasi dengan autoclave 121°C selama 15 menit. Kemudian dinginkan hingga suhu 45 – 50oC lalu tambahkan suplemen secara aseptik 55 ml Egg yolk emulsion dan Polymyxin B sesuai perlakuan .

### 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

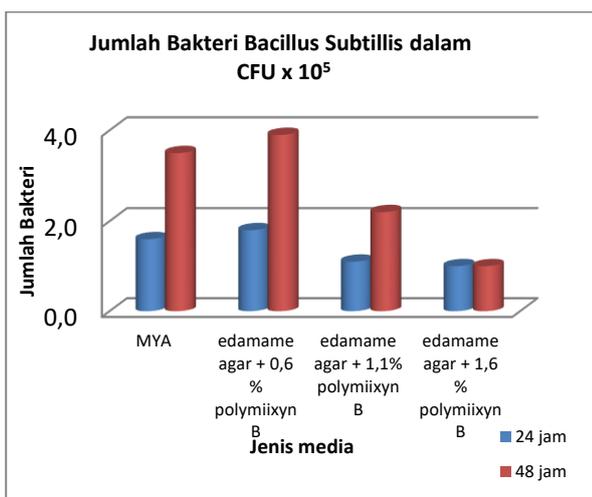
Dari hasil penelitian yang dilakukan sebagaimana yang terlihat pada tabel 1 dan menunjukkan bahwa bakteri *Bacilus subtilis* dapat tumbuh pada media edamame agar dengan penambahan polymyxin B konsentrasi 0,6% ,1,1 % dan 1,6 %.



Tabel 1. Pertumbuhan Bakteri Bacillus subtilis pada Inkubasi 12 jam dan 48 jam

Lama Inkubasi	Media MYP Agar	Media Edamame Agar		
		Polymyxin B 0,6 %	Polymyxin B 1,1 %	Polymyxin B 1,6 %
24 jam	1,6 x 10 <sup>5</sup>	1,8 x 10 <sup>5</sup>	1,1 x 10 <sup>5</sup>	1,0 x 10 <sup>5</sup>
48 jam	3,5 x 10 <sup>5</sup>	3,9 x 10 <sup>5</sup>	2,2 x 10 <sup>5</sup>	1,0 x 10 <sup>5</sup>

Seperti terlihat pada tabel 1 menunjukkan bahwa hasil penelitian yang menggunakan media edamame agar dengan penambahan polymyxin B dan media MYP Agar dengan lama inkubasi 24 jam jumlah koloni bakteri Bacillus subtilis yang tumbuh pada pengenceran 10<sup>-4</sup>. Pada pengenceran 10<sup>-4</sup> bakteri bacillus subtilis yang tumbuh pada media edamame agar dengan penambahan polymyxin B 0,6% adalah 1,8 x 10<sup>5</sup>, 1,1 % adalah 1,1 x 10<sup>5</sup> dan 1,6 % adalah 1,1 x 10<sup>5</sup>. Sedangkan Bakteri Bacillus subtilis pada media MYP Agar adalah 1,6 x 10<sup>5</sup>. Dari hasil perhitungan koloni tersebut dengan waktu inkubasi 24 jam jumlah koloni terbanyak adalah pada media edamame agar dengan penambahan polymyxin B 0,6% yaitu 1,8 x 10<sup>5</sup> dan lebih besar dibandingkan dengan media MYP Agar, 1,1 %, 1,6 %.



Gambar 1. Grafik Jumlah bakteri Bacillus subtilis pada media MYP Agar dan Edamame agar dengan penambahan Polymyxin B

Pada gambar 1 menunjukkan bahwa media edamame agar dengan penambahan polymyxin B dengan lama inkubasi 48 jam mengalami penambahan jumlah koloni menjadi 0,6% adalah 3,9 x 10<sup>5</sup>, 1,1 % adalah 2,2 x 10<sup>5</sup> dan 1,6 % adalah 1,0 x 10<sup>5</sup> dan pada media MYP Agar 3,5 x 10<sup>5</sup>. Dari hasil perhitungan koloni tersebut pada 48 jam waktu inkubasi jumlah koloni terbanyak adalah pada media edamame agar dengan penambahan polymyxin B 0,6% adalah 3,9 x 10<sup>5</sup> diikuti jumlah koloni pada media MYP Agar sebesar 3,5 x 10<sup>5</sup> dan yang paling rendah adalah media edamame agar dengan penambahan polymyxin B 1,6 % adalah 1,0 x 10<sup>5</sup>.

Bakteri Bacillus subtilis dapat tumbuh dengan baik pada edamame agar dengan penambahan polymyxin B 0,6%, ini menunjukkan bahwa dengan penambahan polymyxin B 0,6% mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif sehingga bakteri gram positif dapat tumbuh dengan baik dibandingkan dengan media MYP Agar yang juga masih lebih kecil jumlahnya dan pada penambahan polymyxin B tertinggi 1,6% yang jumlah koloninya paling rendah bahkan tidak terjadi penambahan jumlah dari masa inkubasi 24 jam ke 48 jam, hal ini dikarenakan jumlah antibiotiknya terlalu tinggi sehingga bakteri Bacillus subtilis tidak bisa tumbuh atau banyak yang mati. Penambahan polymyxin B pada media Edamame agar dan media MYP Agar merupakan antibiotik yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (Oxoid 2001). Bacillus subtilis adalah bakteri gram positif dan sangat resisten terhadap polymyxin B sehingga penambahan polymyxin B tidak akan menghambat pertumbuhan bacillus sp (Batt, 2000).

Tabel 2. Hasil Uji Kimia Bakteri Bacillus subtilis

No	Media	Penguji Kimia			
		Katalase	Fermentasi laktosa	Fermentasi Glukosa	VP
			Asam	Asam	
1	MYP				
2	Edamame agar + Polymyxin B 0,6 %	+	-	+	+
3	Edamame agar + Polymyxin B 1,1 %	+	-	+	+
4	Edamame agar + Polymyxin B 1,6 %	+	-	+	+

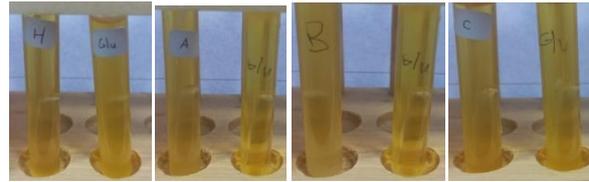
### Uji Katalase

Menurut Jay, 2000, uji katalase membuktikan adanya enzim katalase dari bakteri yang berfungsi dalam penguraian H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Penguji katalase dilakukan dengan menambahkan larutan 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan bakteri yang mengandung enzim katalase akan menunjukkan adanya gelembung udara disekitar koloni. Dari hasil pengujian koloni yang tumbuh pada media edamame agar dengan penambahan Polymyxin B 0,6 %, 1,1 %, 1,6 % dan pada media MYP Agar uji katalase menunjukkan hasil yang positif yaitu ada gelembung gelembung udara dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji Katalase H ( media MYP ), A(edamame agar + polymyxin B 0,6 %), B (edamame agar + polymyxin B 1,1 %),C (edamame agar + polymyxin B 1,6 %)

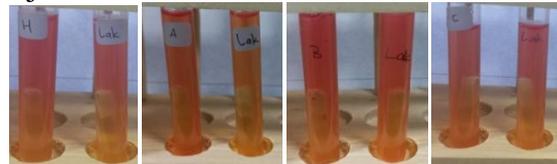
### Uji Fermentasi glukosa



Gambar 3. Hasil uji Glukosa H ( media MYP ), A(edamame agar + polymyxin B 0,6 %), B (edamame agar + polymyxin B 1,1 %),C (edamame agar + polymyxin B 1,6 %)

Dari hasil pengujian dapat dilihat pada gambar 3 yang diambil dari koloni yang tumbuh pada media MYP Agar dan edamame agar dengan penambahan polymyxin B 0,6 %, 1,1 % dan 1,6 % setelah dilakukan uji Glukosa menunjukkan hasil yang positif yaitu terjadinya perubahan warna dari merah menjadi kuning. Hal ini disebabkan karena glukosa yang digunakan oleh bakteri bacillus subtilis saat proses fermentasi dan akan menurunkan pH menjadi asam yang ditandai dengan adanya perubahan warna media dari merah menjadi kuning.

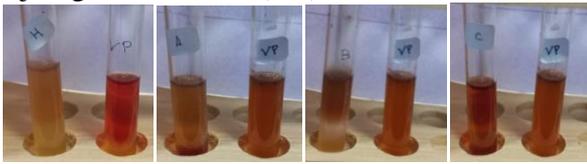
### Uji Fermentasi Laktosa



Gambar 4. Hasil uji Laktosa H ( media MYP ), A(edamame agar + polymyxin B 0,6 %), B (edamame agar + polymyxin B 1,1 %),C (edamame agar + polymyxin B 1,6 %)

Dari hasil pengujian dapat dilihat pada gambar 4 yang diambil dari koloni yang tumbuh pada media MYP Agar dan edamame agar dengan penambahan polymyxin B 0,6 %, 1,1 % dan 1,6 % setelah dilakukan uji Laktosa menunjukkan hasil yang negatif yaitu tidak terjadi perubahan warna dari merah menjadi kuning. Hal ini disebabkan karena tidak terjadi proses fermentasi laktosa oleh bakteri bacillus subtilis yang mana ditandai dengan tidak adanya perubahan warna media dari merah menjadi kuning.

## Uji Vges Proskauer (VP)



Gambar 5. Hasil uji VP H ( media MYP ), A(edamame agar + polymyxin B 0,6 %), B (edamame agar + polymyxin B 1,1 %),C( edamame agar + polymyxin B 1,6 %)

Gambar 5 menunjukkan pengujian VP dengan hasil ke empat media adalah positif yang mana terjadi perubahan warna menjadi merah atau merah muda karena adanya senyawa aseton pada saat proses fermentasi karbohidrat (Lucia R). Dimana pada proses fermentasi tersebut yang menggunakan media voges prokauer broth dengan menambahkan KOH 40% dan reagent alphanaphthol dan direaksikan selama 1- 3 jam.

Tabel 3. Penampakan Koloni Bakteri *Bacillus subtilis* pada media MYP Agar dan Edamame Agar dengan penambahan polymyxin B 0,6 %, 1,1 % dan 1,6 %

Media Pertumbuhan	Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>
MYP Agar	
Edamame Agar + Polymyxin B 0,6 %	
Edamame Agar + Polymyxin B 1,1 %	
Edamame Agar + Polymyxin B 1,6 %	

Penampakan koloni bakteri pada tabel 3 menunjukkan bahwa penampakan koloni yang tumbuh pada media edamame agar dengan penambahan polymyxin B 0,6 %, 1,1 % dan

1,6 % memiliki warna koloni putih keruh, bentuk tunggal, dan mudah diamati karena koloninya jelas sedangkan koloni pada media MYP Agar tampak memiliki warna putih keruh, bentuk tunggal, pinggiran koloni tampak mulus dan rapi, tegas dan mudah diamati.

Tabel 4. Hasil pengecatan gram bakteri *Bacillus subtilis* ( 1000 X ) yang tumbuh pada media edamame agar + polymyxin B dan MYP Agar

Media Pertumbuhan	Koloni bakteri <i>Bacillus subtilis</i>
MYP Agar	
Edamame Agar + Polymyxin B 0,6 %	
Edamame Agar + Polymyxin B 1,1 %	
Edamame Agar + Polymyxin B 1,6 %	

Pewarnaan gram dilakukan untuk melihat bentuk bakteri dan mnegelompokan bakteri menjadi gram positif atau gram negatif. Bakteri gram positif mempertahankan zat warna kristal violet sehingga sel berwarna biru sampai dengan ungu tua sedangkan bakteri gram negatif saat dicuci dengan aseton alkohol akan kehilangan zat warna kristal violet dan ketika diberi zat warna safranin sel bakteri akan menyerap warna ini sehingga warna sel menjadi merah. Dari hasil pengamatan pewarnaan gram seperti terlihat pada tabel 4 diperoleh bahwa warna bakteri *Bacillus subtilis* Media Edamame Agar dengan penambahan Polymyxin B 0,6 %, 1,1 % dan 1,6 % dengan lama inkubasi 48 jam bentuknya batang dan berwarna biru, begitu pula untuk bakteri pada media MYP Agar menghasilkan warna biru. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh pada media edamame agar Media Edamame Agar dengan penambahan Polymyxin B 0,6 %, 1,1 % dan 1,6 % dan media MYA adalah sama yaitu termasuk bakteri gram positif.

## 4. Kesimpulan dan Saran

### 4.1 Kesimpulan

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

1. Dari hasil perhitungan TPC pada media edamame agar dengan penambahan polymyxin B 0,6 % diperoleh jumlah bakteri *Bacillus subtilis* tertinggi yaitu  $3,9 \times 10^5$  dan yang paling rendah adalah Polymyxin B 1,6 % yaitu  $1,0 \times 10^5$  sedangkan pada media MYP Agar adalah  $3,5 \times 10^5$
2. Dari hasil perhitungan TPC, Polymyxin B mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif sehingga bakteri gram positif (*Bacillus subtilis*) dapat tumbuh dengan baik.
3. Dari hasil pengujian kimia media edamame agar dengan penambahan polymyxin B dan media MYP Agar menghasilkan uji katalase positif karena ada gelembung, uji fermentasi laktosa memberikan hasil yang negatif dilihat dari warna merah dan tidak ada gas, uji fermentasi glukosa memberi hasil yang positif dilihat terjadinya perubahan warna menjadi warna kuning dan hasil uji VP positif karena pada perubahan warna permukaan larutan menjadi berwarna merah.
4. Dari hasil pengecatan gram menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media pada media Edamame agar dan media MYP Agar diperoleh hasil pengecatan gram bentuknya batang dan berwarna biru adalah sama yaitu termasuk bakteri gram positif.

### 4.2 Saran

Penelitian Efektivitas Media Edamame Agar Dengan Penambahan Polymyxin B Sebagai Media Selektif Alternatif 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.

## 5. Ucapan Terima Kasih

Kami sampaikan terima kasih kepada Direktur Politeknik Negeri Jember, Ketua Jurusan Teknologi Pertanian, Ketua Pusat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (P3M), ketua Laboratorium Analisis Pangan, Tim Penguji, Civitas Akademika Politeknik Negeri Jember serta semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

## 6. Daftar Pustaka

- [1]. Aini, F.N., S. Sukanto, 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]. Aan Sofian, dkk, 2016. Analisis Total Mikroba *Bacillus cereus* dan *staphylococcus aureus* Pada Proses Pembuatan Tahu Gama Yogyakarta. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [4]. Adinda Tyas Utami Wibowo. 2018. Uji Efektivitas Media Selektif untuk isolasi *Trichoderma Spp.* Pada Lahan Bawang Prei organik dan konvensional. Fakultas pertanian. Universitas Brawijaya Malang.
- [5]. Ari, D.C. 2018. Aplikasi Bakteri *Bacillus Subtilis* Dengan Dosis Yang Berbeda Terhadap Dinamika Fitoplankton Pada Tambak Intensif Udang Vaname. Jurusan Budidaya Perairan. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Makassar. 2018
- [6]. Azhar, M. 2016. Biomolekul Sel Karbohidrat, Protein dan Enzim. Padang. UNP Press Padang.
- [7]. Batt CA. 2000. Encyclopedia Of Food Microbiology. Academic Press. San Diego.



- [8]. Fardiaz, S,1989.Mikrobiologi Pangan . Institut Pertanian Bogor
- [9]. Fardiaz, S,1992.Mikrobiologi Pangan I .PT.Garmedia Pustaka utama .Jakarta.
- [10]. 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.
- [11]. Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus* Spp. Oseana, 25(1): 31-41.
- [12]. 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.
- [13]. Lucia R., Winata Muslimin,Adryani Ris, Abdul Wahid Jamaludin, Siti Arifah. Program Studi Kedokteran Hewan. Fakultas Kedokteran . Universitas Haasanudin.
- [14]. Nanik A., Dian N dan M.Djabir S., 2021. Optimasilisasi Pertumbuhan Bakteri *E.coli* dan *Bacillus subtilis* pada media Edamame Agar. Program Studi Teknologi Pangan. Jurusan Teknologi Pertanian . Pliteknik Negeri Jember.
- [15]. Nanik A., Dian N dan M.Dajir S. 2022. Optimasilisasi Media Edamame Agar Dengan Penambahan Ekstrak Daging Sapi Untuk Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis*. Program Studi Teknologi Pangan. Jurusan Teknologi Pertanian . Politeknik Negeri Jember.
- [16]. Neogen Corporation. MYP Agar Base (7741). 620 Leshar Place, Lansing MI 48912 . [info@neogen.com](mailto:info@neogen.com). [www.neogen.com](http://www.neogen.com).
- [17]. Putri Rahayu Indah Ekantini, kusuma Tiara Mega dan Pribadi Prasojo. Identifikasi Bakteri *Bacillus cereus* pada mie basah di pasar kebonpolo magelang.Program Studi Farmasi. Fakultas Kesehatan. Universitas Muhamadiyah Magelang.
- [18]. Rahayu,A.T.2015. Media Alternatif untuk pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat yang berbeda. Siminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS 2015
- [19]. Rizky,WD.2013 Pengaruh Kandungan tepung bulu ayam sebagai Media pertumbuhan Bakteri *Esherichia cili*. Semarang. Jurusan analis Kesehatan, Poltekes Semarang.
- [20]. Rasyid,A, 2004, Beberapa catatan tentang agar, Oseanea,volume XXIX nomor 2, 2004. Pusat penelitian Oseanografi LIPI .Jakarta.
- [21]. Suyono dan Susijohadi, 1994. Bercocok Tanam Edamame ( vegetable Soybean ). Fakultas Pertanian. Universitas Jember
- [22]. Soeparno,2005. Ilmu dan Teknologi Daging. Gajah Mada Universty Press, Yogyakarta.
- [23]. Suharjo,Harper,J.L, deaton.J.B dan Driskel,A.j.1986.Pangan, Giz dan Pertanian. Jakarta UI Press.
- [24]. Suryanie.2000. Metode Pembuatan Media Pertumbuhan Kuman dari Ekstrak Daging Sapi. Media Kedokteran Hewan .Vol.15.No.5. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- [25]. Soesanto, L. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman, Suplemen ke Gulma dan Nematoda. Rajawali Pers. 573 p.
- [26]. United States Departemen Of Agriculture ( 2021 ), Plant Profile for *Glycine max* ( soybean) .Plant home/USD.gov/NRCS ( diakses pada 4 April 2021).
- [27]. 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.
- [28]. 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.
- [29]. Suarsana,2016. Konsumsi daging Sapi Bali dan Pengaruhnya Pada Profil lipo Protein Plasma Tikus. Buletin Veteriner Udayana, ( darin 0, 8(10:86-92
- [30]. Zaki, I . 2012. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Mikrobiologi Biskuit Bayi Dengan Subtitusi Tepung Labu Kuning ( Cucurbita Moschata) Dan Tepung Ikan Patin (*Pangasius Spp*) Sebagai MP-ASI, (Tesis ), Universitas Diponegoro.

