

TINJAUAN GRAFIK KACANG KEDELAI HITAM (*Glycine soja*) SEBAGAI MEDIA ALTERNATIF UNTUK PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli*

Karunia Sita Maharani

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya; karuniasitam@gmail.com

Suliati

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya; suli_ati@poltekkesdepkes-sby.ac.id

Syamsul Arifin

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya; syarifin61@poltekkesdepkes-sby.ac.id

ABSTRACT

Escherichia coli bacteria are gram negative bacteria and provide several benefits to humans, but in large numbers these bacteria can cause dangers such as diarrhea. Identification of these bacteria generally uses EMB Agar media. However, in ready-to-use media, the price given is relatively expensive, can be obtained at certain places and is hygroscopic so that it must be considered how to store it so it does not clot. It is necessary to develop alternative growth media using natural ingredients with the same nutrition as ready-to-use media, one of which is black soybeans. This research was experimental. The research was conducted at the Bacteriology Laboratory of the Health Analyst Department Campus, Surabaya in December 2018-June 2019. Sample preparation was carried out by inoculating *Escherichia coli* bacteria cultures on EMB Agar media and alternative media of black soybean, then incubating them in an incubator at 37°C for 1x24 hours. This study concluded that the alternative media of black soybeans with concentrations of 4g, 6g, 8g, 10g and 12g showed an increase in results by an average of 14; 17.25; 60.28; 71.5; 82.5 × 10¹²cfu/mL, diameter 0.15 cm; 0.25cm; 0.245cm; 0.275cm; 0.4cm with the same colony characteristics as the positive control, namely small round, full edge, convex elevation, black. From the results of the graphic review of black soybeans as an alternative medium for the growth of *Escherichia coli* bacteria, it showed that there was no effect between concentration and bacterial growth per replication, so this black soybean media can be used as an alternative medium for the growth of *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: Black soybean (*Glycine soja*), *Escherichia coli*, number of colonies, colony diameter, colony characteristics.

ABSTRAK

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif dan memberikan beberapa manfaat bagi manusia, namun dalam jumlah yang besar bakteri ini dapat menimbulkan bahaya seperti diare. Identifikasi bakteri ini umumnya menggunakan media EMB Agar. Tetapi pada media dalam bentuk siap pakai, harga yang diberikan relatif mahal, dapat diperoleh pada tempat-tempat tertentu dan bersifat higroskopis sehingga harus diperhatikan cara penyimpanan supaya tidak menggumpal. Diperlukan adanya pengembangan media pertumbuhan alternatif dengan menggunakan bahan alami yang nutrisinya sama seperti media siap pakai, salah satunya adalah kacang kedelai hitam. Penelitian ini bersifat Eksperimental. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Kampus Jurusan Analis Kesehatan Surabaya pada bulan Desember 2018-Juni 2019. Persiapan sampel dilakukan dengan menginokulasikan biakan bakteri *Escherichia coli* pada media EMB Agar dan media alternatif kedelai hitam, kemudian menginkubasi dalam incubator pada suhu 37°C dalam 1x24jam. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa media alternatif kacang kedelai hitam dengan konsentrasi 4g, 6g, 8g, 10g dan 12g menunjukkan hasil yang meningkat dengan rata-rata sebesar 14; 17,25; 60,28; 71,5; 82,5 × 10¹²cfu/mL, ukuran diameter 0,15cm; 0,25cm; 0,245cm; 0,275cm; 0,4cm dengan karakteristik koloni yang sama dengan kontrol positif yaitu bulat kecil, tepi penuh, elevasi cembung, berwarna hitam. Dari hasil tinjauan grafik kacang kedelai hitam sebagai media alternatif untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menunjukkan tidak ada pengaruh antara konsentrasi dengan pertumbuhan bakteri per replikasi, sehingga media kacang kedelai hitam ini dapat digunakan media alternatif untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: Kacang kedelai hitam (*Glycine soja*), *Escherichia coli*, jumlah koloni, diameter koloni, karakteristik koloni.

PENDAHULUAN

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif sebagian besar flora normal didalam usus yang bersifat aerob, umumnya bakteri ini tidak menyebabkan penyakit melainkan dapat membantu fungsi humoral dan nutrisi pada manusia (Haribi, dkk 2010). Bakteri ini dapat memberikan beberapa manfaat bagi manusia diantaranya dapat menekan pertumbuhan bakteri jahat pada usus besar manusia dan juga membantu dalam proses pencernaan usus besar manusia termasuk pembusukan sisa-sisa makanan, namun dalam jumlah yang besar bakteri ini dapat menimbulkan bahaya seperti diare¹².

Insiden penyakit diare sampai saat ini masih merupakan penyebab kematian utama di dunia, terhitung 5-10 juta kematian/tahun (Kosasih, 2010). Besarnya masalah tersebut terlihat dari tingginya angka kesakitan dan kematian akibat penyakit diare. Diare juga dapat berpotensi mengakibatkan kematian. Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2016, menunjukkan bahwa prevalensi angka kematian yang disebabkan oleh diare sebesar 3,04%. World Health Organization (WHO) tahun 2008 bahwa bakteri yang sering ditemukan pada kasus diare adalah bakteri *Escherichia coli*. Mengidentifikasi bakteri ini pada laboratorium mikrobiologi menggunakan media identifikasi diferensial, salah satu media yang sering digunakan adalah media EMB Agar.

Media EMB Agar ini merupakan tempat isolat bakteri *Escherichia coli* dibiakkan, koloni yang tumbuh pada media tersebut akan berwarna hijau metalik, permukaan koloni cembung dengan pinggiran rata yang khas ditunjukkan oleh bakteri ini³. Media EMB merupakan media diferensial tetapi selektif untuk membedakan bakteri gram positif dengan bakteri gram negative lainnya⁹. Bakteri ini mampu memfermentasikan laktosa dan akan menghasilkan koloni methalik sheen pada *Eosin Methylene Blue*⁸.

Media ini memiliki kandungan yang terdiri dari bahan-bahan kimia yang telah diketahui komposisinya secara pasti dan memiliki beberapa kandungan terpenting, diantaranya laktosa yang berfungsi untuk memisahkan bakteri yang memfermentasikan laktosa dan sebagai sumber karbohidrat untuk pertumbuhan mikroorganisme. Pepton berfungsi sebagai sumber protein untuk mikroorganisme yang akan dibiakkan. Kemudian terdiri dari *Eosin Methylene Blue* adalah sebagai indikator warna pada media EMB ini (Jumanti, 2013). *Escherichia coli* ini membutuhkan pepton dalam pertumbuhannya. Pepton merupakan hidrolisat protein yang banyak digunakan sebagai salah satu komponen nutrisi dalam media pertumbuhan mikroorganisme¹¹.

Sebagai bahan utama pangan, kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) memiliki keunggulan tersendiri karena kandungan gizinya yang cukup tinggi, terutama protein dan karbohidrat (Anonim, 2008). Ada 2 jenis kedelai yaitu kedelai kuning dan hitam. Dalam 100 g kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) mengandung 35,2 g protein (Widiawati, 2016). Mutu protein kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) termasuk paling unggul dibandingkan dengan jenis tanaman lain, bahkan hampir mendekati protein hewani⁶.

²dalam penelitian yang berjudul *alternative culture media for bacterial growth using different formulation of protein sources* menyatakan bahwa telah menemukan media alternatif untuk pertumbuhan bakteri dari bahan-bahan yang mudah ditemukan di alam seperti pemanfaatan kacang tunggak, kacang hijau, dan kacang kedelai hitam untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus sp.* dan *Pseudomonas sp.* dan adanya tinggi protein yang terdapat pada kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) ini untuk digunakan sebagai media alternatif dari media EMB Agar.

Sampai saat ini media EMB Agar sering digunakan untuk pemeriksaan pada laboratorium mikrobiologi. Media yang sering digunakan diproduksi oleh pabrik sudah dalam bentuk siap pakai sehingga harga yang diberikan relatif mahal, dapat diperoleh pada tempat-tempat tertentu dan bersifat higroskopis atau *sensitive* terhadap udara sehingga harus selalu diperhatikan cara penyimpanan media supaya tidak menggumpal, maka perlu adanya pengembangan media pertumbuhan alternatif yang dapat menumbuhkan bakteri dengan menggunakan bahan alami yang nutrisinya sama seperti media siap pakai, salah satunya adalah menggunakan kacang kedelai hitam (*Glycine soja*). Penelitian ini bertujuan untuk Mengetahui tinjauan grafik kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) sebagai media alternatif terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

METODE

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian adalah serbuk kacang kedelai hitam yang diperoleh dari PT. Materia Medica, Batu, Malang yang ditakar dalam berbagai massa yaitu 4 g, 6 g, 8 g, 10 g dan 12 g. Biakan murni bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya.

Media dan Reagen

Media yang digunakan antara lain, Media EMBA (Eosin Methylene Blue Agar) Sedangkan reagen yang digunakan antara lain PZ, H₂SO₄, BaCl₂, NaCl steril 0,9%, dan Aquadest steril.

Metode Pengujian

Metode pengujian yang digunakan adalah secara spread plate untuk menginokulasikan bakteri *Escherichia coli* pada media dan mengamati pertumbuhannya terhadap beberapa.

Teknik Analisa Data

Dari data hasil penelitian, maka dilakukan secara deskriptif yang disajikan dalam bentuk tabulasi dan diagram untuk mengamati bentuk koloni bakteri *Escherichia coli*. Kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji Non Parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis* yang digunakan untuk menguji ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam dengan EMB sebagai gold standart dan dilihat dengan memperbandingkan banyaknya koloni dalam gold standart EMB (25 sampai 250 koloni) dengan banyaknya koloni dalam kedelai hitam antara konsentrasi 4 g, 6 g, 8 g, 10 g dan 12 g, sehingga dapat diketahui dapat menumbuhkan bakteri *Escherichia coli*.

HASIL

Setelah dilakukan penelitian tentang pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*). Tahap penelitian dimulai dari uji pendahuluan untuk menentukan konsentrasi suspensi bakteri *Escherichia coli*, maka didapatkan hasil seperti pada tabel 5.1

Tabel 5.1 Data hasil uji pendahuluan penentuan konsentrasi suspensi bakteri *Escherichia coli*

No.	Konsentrasi Suspensi	Σ	Diameter Koloni	Karakteristik Koloni
1	10 ⁸	>300	∞	Kecil dan bergerombol
2	10 ⁹	>300	∞	Mulai terbentuk koloni tunggal
3	10 ¹⁰	>300	0.15 cm; 0.1 cm	Ada beberapa koloni tunggal
4	10 ¹¹	276	0.2 cm	Koloni tunggal dan bergerombol
5	10 ¹²	54	0.1 cm; 0.2 cm	Koloni besar dan tunggal

Tabel 5.1 menunjukkan pengenceran yang dapat digunakan pada pengenceran 10¹² karena pada pengenceran tersebut koloni yang dihasilkan sudah membentuk koloni tunggal, tidak bergerombol, dan dapat mudah dilihat. Kemudian dilanjutkan dengan penanaman pada media pertumbuhan alternatif dari kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) dan EMB Agar sebagai kontrol positif, tiap tahapan yang dilakukan untuk mendapatkan hasil jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh dengan replikasi sebanyak 4 kali yang dibuat pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*), maka didapatkan hasil seperti pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Data Hasil Jumlah Koloni Bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) dengan pengenceran 10¹²

No.	Konsentrasi Media	Jumlah koloni				Σ	Rata-rata (x10 ¹² cfu/mL)
		1	2	3	4		
1.	Kontrol (+)	54	52	48	50	204	51
2.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
3.	4%	15	18	13	10	56	14
4.	6%	12	10	23	24	69	17,25
5.	8%	52	51	60	78	241	60,28
6.	10%	71	73	85	57	286	71,5
7.	12%	84	80	85	81	330	82,5

Tabel 5.2 menunjukkan pertumbuhan tertinggi bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) berada di konsentrasi 12% karena rata-rata koloni yang tumbuh paling tinggi jika dibandingkan dengan konsentrasi yang lain maupun dengan kontrol positif yang digunakan yaitu sebesar 82,5 ×

10^{12} cfu/mL dan angka pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* terjadi penurunan jika konsentrasi media alternatif semakin rendah. Hal ini, menunjukkan perbedaan kandungan nutrisi yang ada di setiap konsentrasi media yang diuji akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*).

Kemudian dilanjutkan dengan penanaman pada media pertumbuhan alternatif dari kacang kedelai hitam (*Glycinesoja*) dan EMB Agar sebagai kontrol positif, tiap tahapan yang dilakukan untuk mendapatkan hasil ukuran koloni bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh dengan replikasi sebanyak 4 kali, maka didapatkan hasil seperti pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Data Hasil Ukuran koloni Bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) dengan pengenceran 10^{12}

No.	Konsentrasi Media	Ukuran koloni bakteri (cm)				Σ	Rata-rata
		1	2	3	4		
1.	Kontrol (+)	0,2 cm	0,2 cm	0,2 cm	0,2 cm	0,8 cm	0,2 cm
2.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
3.	4%	0,1 cm	0,2 cm	0,1 cm	0,2 cm	0,6 cm	0,15 cm
4.	6%	0,2 cm	0,2 cm	0,3 cm	0,3 cm	1 cm	0,25 cm
5.	8%	0,25 cm	0,22 cm	0,25 cm	0,26 cm	0,98 cm	0,245 cm
6.	10%	0,3 cm	0,3 cm	0,2 cm	0,3 cm	1,1 cm	0,275 cm
7.	12%	0,4 cm	0,6 cm	0,4 cm	0,2 cm	1,6 cm	0,4 cm

Keterangan : satuan rata-rata dari diameter koloni tersebut adalah $\times 10^{12}$ cfu/mL

Tabel 5.3 menunjukkan terdapat beberapa variasi diameter koloni bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) yaitu berkisar 0,2 – 0,275cm. Sedangkan jika dibandingkan dengan ukuran diameter pada kontrol positif dengan media alternatif kedelai hitam (*Glycine soja*) yang diberi konsentrasi, dari perbandingan tersebut didapatkan hasil media yang memiliki ukuran diameter koloni yang hampir sama adalah pada konsentrasi 12g yaitu sebesar 0,4cm. Hal ini, menunjukkan kandungan nutrisi yang didapat pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) tersebut melimpah, proses metabolisme bakteri akan berlangsung optimal sehingga proses pembelahan sel bakteri *Escherichia coli* berjalan dengan baik dan dapat menyebabkan ukuran koloni semakin besar sehingga mempengaruhi diameter koloni bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*).

Kemudian dilanjutkan dengan penanaman bakteri *Escherichia coli* pada media pertumbuhan alternatif dari kacang kedelai hitam (*Glycinesoja*) dan EMB Agar sebagai kontrol, tiap tahapan yang dilakukan untuk mendapatkan hasil karakteristik koloni bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh dengan replikasi sebanyak 4 kali, maka didapatkan hasil seperti pada tabel 5.4.

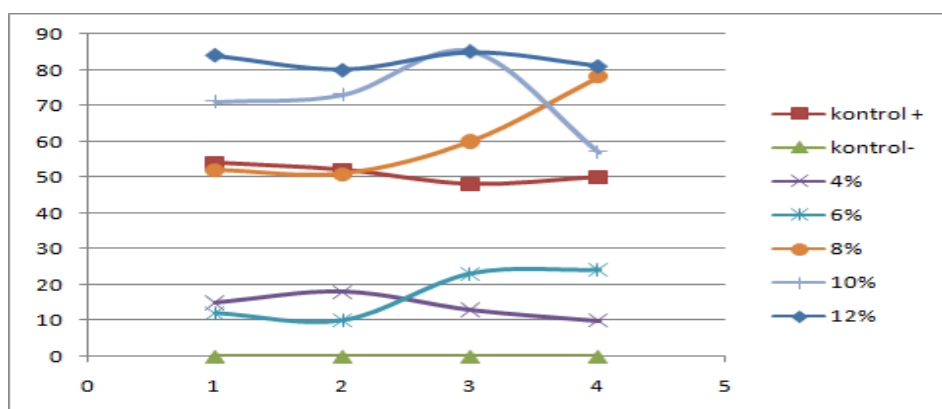
Tabel 5.4 Data hasil karakteristik bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) dengan pengenceran 10^{12}

No	Konsentrasi media	Karakteristik koloni						
		Makroskopis			mikroskopis			
		Ukuran	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Sifat	Bentuk
1.	Kontrol (+)	0,2cm	Bulat, gembuk, tunggal dan bergerombol	Penuh	Cembung	Hijau metalik	Gram (-)	Basil
2.	Kontrol (-)	0 cm	-	-	-	-	-	-
3.	4%	0,15cm	Bulat, kecil, tunggal	Penuh	Cembung	Hitam	Gram (-)	Basil
4.	6%	0,25cm	Bulat, kecil, tunggal	Penuh	Cembung	Hitam	Gram (-)	Basil
5.	8%	0,245cm	Bulat, kecil, tunggal	Penuh	Cembung	Hitam	Gram (-)	Basil
6.	10%	0,275cm	Bulat, kecil, tunggal	Penuh	Cembung	Hitam	Gram (-)	Basil
7.	12%	0,4cm	Bulat, kecil, tunggal	Penuh	Cembung	Hitam	Gram (-)	Basil

Pada media EMB Agar yang merupakan control positif menunjukkan jumlah koloni yang tumbuh sebanyak 51×10^{12} cfu/mL dengan ukuran rata-rata 0,2 cm. Hasil pengamatan secara makroskopis dengan bantuan kaca pembesar karakteristik koloni memiliki bentuk bulat, gembuk, tunggal dan bergerombol dengan tepi penuh, elevasi cembung, dan warna hijau metalik. Sedangkan, hasil pengamatan secara mikroskopis koloni merupakan gram (-)/negatif dengan bentuk basil berwarna merah. Pada media agar bacteriological yang merupakan kontrol negatif menunjukkan tidak ada koloni yang tumbuh dikarenakan sumber nutrisi tidak

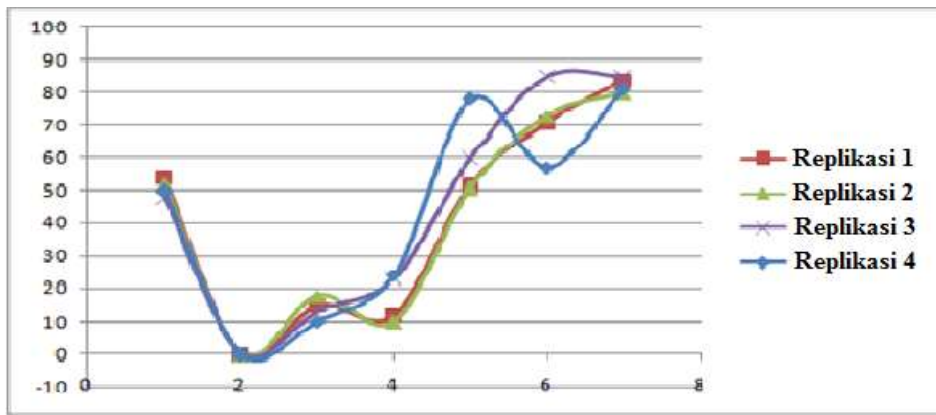
tersedia. Pada media alternatif kedelai hitam dengan konsentrasi 4g menunjukkan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh sebanyak $32,75 \times 10^{12}$ cfu/mL, dengan ukuran rata-rata 0,15 cm. Hasil pengamatan secara makroskopis dengan bantuan kaca pembesar karakteristik koloni memiliki bentuk bulat, kecil, tunggal dengan tepi penuh, elevasi cembung, dan warna hitam. Sedangkan, hasil pengamatan secara mikroskopis koloni merupakan gram (-)/negatif dengan bentuk basil berwarna merah. Pada media alternatif kedelai hitam dengan konsentrasi 6g menunjukkan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh sebanyak 14×10^{12} cfu/mL, dengan ukuran rata-rata 0,25 cm. Hasil pengamatan secara makroskopis dengan bantuan kaca pembesar karakteristik koloni memiliki bentuk bulat, kecil, tunggal dengan tepi penuh, elevasi cembung, dan warna hitam. Sedangkan, hasil pengamatan secara mikroskopis koloni merupakan gram (-)/negatif dengan bentuk basil berwarna merah. Pada media alternatif kedelai hitam dengan konsentrasi 8g menunjukkan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh sebanyak $60,28 \times 10^{12}$ cfu/mL, dengan ukuran rata-rata 0,245 cm. Hasil pengamatan secara makroskopis dengan bantuan kaca pembesar karakteristik koloni memiliki bentuk bulat, kecil, tunggal dengan tepi penuh, elevasi cembung, dan warna hitam. Sedangkan, hasil pengamatan secara mikroskopis koloni merupakan gram (-)/negatif dengan bentuk basil berwarna merah. Pada media alternatif kedelai hitam dengan konsentrasi 10g menunjukkan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh sebanyak $71,5 \times 10^{12}$ cfu/mL, dengan ukuran rata-rata 0,275 cm. Hasil pengamatan secara makroskopis dengan bantuan kaca pembesar karakteristik koloni memiliki bentuk bulat, kecil, tunggal dengan tepi penuh, elevasi cembung, dan warna hitam. Sedangkan, hasil pengamatan secara mikroskopis koloni merupakan gram (-)/negatif dengan bentuk basil berwarna merah. Pada media alternatif kedelai hitam dengan konsentrasi 12g menunjukkan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh sebanyak $82,5 \times 10^{12}$ cfu/mL, dengan ukuran rata-rata 0,4 cm. Hasil pengamatan secara makroskopis dengan bantuan kaca pembesar karakteristik koloni memiliki bentuk bulat, kecil, tunggal dengan tepi penuh, elevasi cembung, dan warna hitam. Sedangkan, hasil pengamatan secara mikroskopis koloni merupakan gram (-)/negatif dengan bentuk basil berwarna merah.

Analisa Data



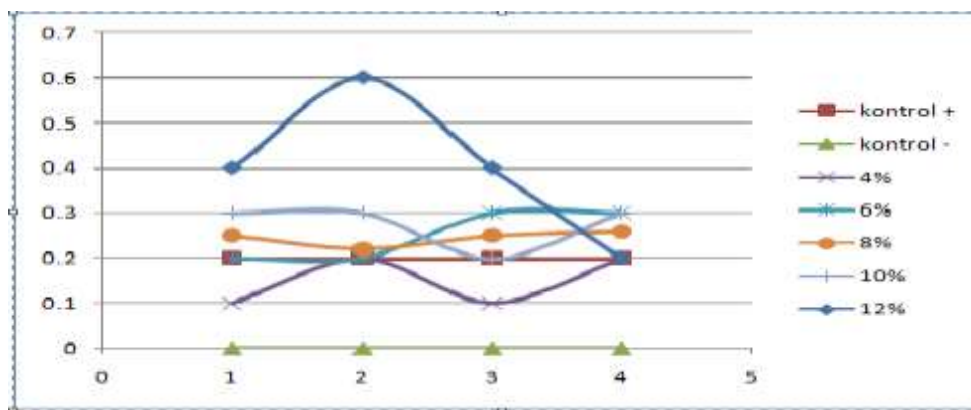
Gambar 5.1 Gra fik pengaruh pemeriksaan per konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Gambar 5.1 menunjukkan bahwa hasil yang didapatkan pada tabel tersebut tidak ada pengaruh pemeriksaan per konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* karena titik pada tabel tersebut tidak menunjukkan garis linear, sehingga dinyatakan tidak berpengaruh.



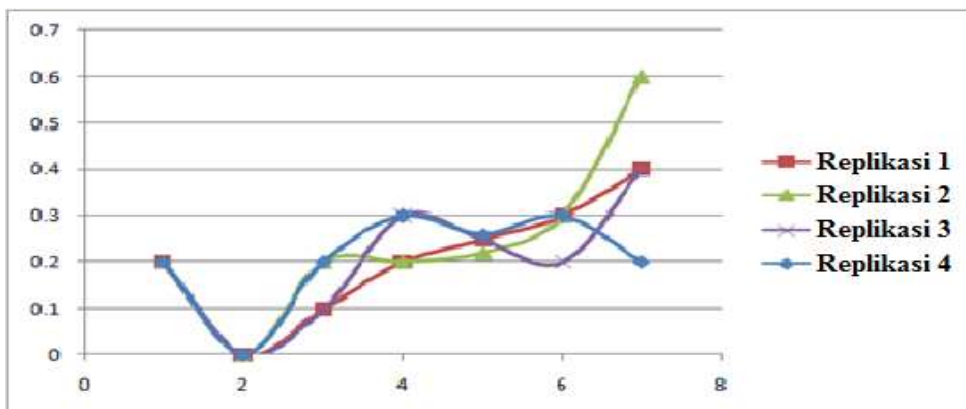
Gambar 5.2 Grafik pengaruh perubahan konsentrasi terhadap jumlah koloni per replikasi

Gambar 5.2 menunjukkan bahwa hasil yang didapatkan pada tabel tersebut tidak ada pengaruh perubahan konsentrasi terhadap jumlah koloni per replikasi karena titik pada tabel tersebut tidak menunjukkan garis linear, sehingga dinyatakan tidak berpengaruh.



Gambar 5.3 Grafik pengaruh pemeriksaan per konsentrasi terhadap diameter koloni

Gambar 5.3 menunjukkan bahwa hasil yang didapatkan pada tabel tersebut tidak ada pengaruh perubahan konsentrasi terhadap jumlah koloni per replikasi karena titik pada tabel tersebut tidak menunjukkan garis linear, sehingga dinyatakan tidak berpengaruh.



Gambar 5.4 Grafik pengaruh perubahan konsentrasi terhadap diameter koloni per replikasi

Gambar 5.4 menunjukkan bahwa hasil uang didapatkan pada tabel tersebut tidak ada pengaruh perubahan konsentrasi terhadap jumlah koloni perreplikasi karena titik pada tabel tersebut tidak menunjukkan garis linear, sehingga dinyatakan tidak berpengaruh.

Tabel 5.5 Uji Normalitas dan uji uniform atau homogenitas dari jumlah koloni Bakteri *Escherichia coli*

		positif	negatif	empat	enam	delapan	sepuluh	duabelas
N		4	4	4	4	4	4	4
Uniform Parameters*	Minimum	48.00	.00 ^a	25.00	10.00	51.00	57.00	80.00
	Maximum	54.00	.00	39.00	18.00	78.00	85.00	85.00
Most Extreme Differences	Absolute	.250		.429	.250	.463	.250	.300
	Positive	.250		.250	.250	.463	.250	.300
	Negative	-.250		-.429	-.250	-.250	-.250	-.300
Kolmogorov-Smirnov Z		.500		.857	.500	.926	.500	.600
Asymp. Sig. (2-tailed)		.964		.455	.964	.358	.964	.864

		positif	negatif	empat	enam	delapan	sepuluh	duabelas
N		4	4	4	4	4	4	4
Normal Parameters*	Mean	51.0000	.0000	32.7500	14.0000	60.2500	71.5000	82.5000
	Std. Deviation	2.58199	.00000 ^a	6.84957	3.36650	1.2500E1	1.1474E1	2.38048
Most Extreme Differences	Absolute	.151		.278	.133	.258	.233	.236
	Positive	.151		.208	.133	.258	.198	.236
	Negative	-.151		-.278	-.133	-.230	-.233	-.236
Kolmogorov-Smirnov Z		.301		.557	.266	.516	.465	.471
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000		.916	1.000	.953	.982	.979

Tabel 5.5 memuat tentang uji normalitas dan uji homogenitas. Dinyatakan bahwa data berdistribusi normal karena untuk semua nilai perlakuan: asymp. Sig (2 tail) diatas 0,05, kecuali 0 gram (kontrol -). Uji Homogenitas data pada tabel 5.5 memperlihatkan hasil homogen karena nilai Sig 964; 455; 964; 358; 964; 864 yaitu diatas 0,05, sehingga akan dilanjutkan dengan Uji Anova One Way

Tabel 5.6 Uji Anova One Way dari jumlah koloni bakteri *Escherichia coli*

ANOVA					
VAR00002					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22047.357	6	3674.560	71.749	.000
Within Groups	1075.500	21	51.214		
Total	23122.857	27			

Berdasarkan tabel 5.6 dari Uji Anova One Way terlihat nilai signifikan (p-value) 0.000 yang berarti > 0.05. Hal ini menunjukkan ada perbedaan nilai rata-rata dari jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) dengan media kontrol positif.

Tabel 5.7 Uji Normalitas dan uji uniform atau homogenitas dari diameter koloni Bakteri *Escherichia coli*

		R1	R2	R3	R4
N		7	7	7	7
Normal Parameters*	Mean	.2071	.2457	.2071	.2086
	Std. Deviation	.13048	.18063	.13048	.10254
Most Extreme Differences	Absolute	.192	.271	.192	.324
	Positive	.095	.271	.095	.186
	Negative	-.192	-.257	-.192	-.324
Kolmogorov-Smirnov Z		.509	.717	.509	.857
Asymp. Sig. (2-tailed)		.958	.683	.958	.455

a. Test distribution is Normal.

		R1	R2	R3	R4
N		7	7	7	7
Uniform Parameters*	Minimum	.00	.00	.00	.00
	Maximum	.40	.60	.40	.30
Most Extreme Differences	Absolute	.214	.357	.214	.524
	Positive	.143	.357	.143	.143
	Negative	-.214	-.190	-.214	-.524
Kolmogorov-Smirnov Z		.567	.945	.567	1.386
Asymp. Sig. (2-tailed)		.905	.324	.905	.043

a. Test distribution is Uniform.

Tabel 5.7 berisi tentang Uji Normalitas dan Uji Homogenitas dari diameter koloni *Escherichia coli*. Dapat dinyatakan bahwa data berdistribusi normal karena semua nilai perlakuan: asymp. Sig (2 tail) diatas 0,05 kecuali 0 gram (kontrol negatif). Sedangkan Uji Homogenitas mendapatkan hasil distribusi homogeny karena semua nilai perlakuan asymp.sig (2 tail) diatas 0,05, sehingga akan dilanjutkan dengan Uji Anova One Way.

Tabel 5.8 Uji Anova One Way dari diameter koloni bakteri *Escherichia coli*

ANOVA					
VAR00002					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.362	6	.060	11.700	.000
Within Groups	.108	21	.005		
Total	.471	27			

Berdasarkan tabel 5.8 dari Uji Anova One Way terlihat nilai signifikan (p-value) 0.000 yang berarti > 0.05. Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan nilai rata-rata dari jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* pada media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) dengan media kontrol positif.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan media alternatif pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan sumber daya alam dengan kandungan protein tinggi yaitu kacang kedelai hitam, dilakukan replikasi sebanyak 4 kali untuk mendapatkan hasil yang akurat dan dilakukan uji sterilitas pada media untuk menguji kualitas media. Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa seluruh konsentrasi media alternatif kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) yang digunakan mulai dari konsentrasi 4g hingga 12g dapat menumbuhkan bakteri *Escherichia coli* dengan hasil yang bervariasi.

Dalam penelitian⁵ mengatakan bahwa media alternatif yang digunakan haruslah mengandung sumber nitrogen dan sumber karbon yang cukup tinggi, hal ini dapat ditinjau dari kandungan protein dan karbohidrat kedelai yang cukup tinggi. Hal ini dapat dilihat dari kandungan protein dan karbohidrat kedelai hitam yang cukup tinggi sebesar 43-44,6%⁶, sehingga dapat digunakan sebagai sumber nitrogen dan karbon untuk pertumbuhan bakteri. Selain itu juga² menunjukkan hasil penelitiannya bahwa beberapa jenis kacang-kacangan dapat menjadi media alternatif untuk pertumbuhan beberapa jenis bakteri salah satunya adalah kacang kedelai hitam terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Dari data grafik pengaruh pemeriksaan per konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada kontrol positif didapatkan hasil rata-rata sebesar 51. Konsentrasi 4g didapatkan rata-rata hasil yaitu sebesar 14. Pada konsentrasi 6g didapatkan hasil yaitu sebesar 17,25. Pada konsentrasi 8g didapatkan hasil yaitu sebesar 60,28. Pada konsentrasi 10g didapatkan hasil yaitu sebesar 71,5. Pada konsentrasi 12g didapatkan hasil yaitu sebesar 82,5. Dilihat dari grafik pengaruh pemeriksaan per konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menunjukkan tidak ada pengaruh terhadap konsentrasi kacang kedelai hitam yang digunakan.

¹mengungkapkan media merupakan substrat yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroorganisme. Dalam konsentrasi terendah kacang kedelai hitam yang digunakan untuk media alternatif menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*. Secara statistik dengan bertambahnya konsentrasi kacang kedelai hitam yang digunakan untuk media pertumbuhan bakteri didapatkan adanya peningkatan jumlah koloni. Syarat media pertumbuhan adalah menumbuhkan koloni bakteri, dalam media pertumbuhan substrat bukanlah faktor tunggal dalam mempengaruhi bakteri ada faktor lain juga yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri antara lain suhu dan pH. Suhu adalah salah satu faktor lingkungan yang terpenting yang memengaruhi kehidupan pertumbuhan organisme. Suhu dapat memengaruhi mikroorganisme dalam dua cara yaitu apabila suhu naik, kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhan dipercepat, dan sebaliknya apabila suhu turun kecepatan metabolisme juga turun dan pertumbuhan diperlambat⁷. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan aktivasi enzim untuk mengkatalisis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri¹³.

Hasil pengolahan data uji anova one way menunjukkan perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni *Escherichia coli* yang tumbuh di media EMB Agar (kontrol positif) dan media alternatif kacang kedelai hitam dengan berbagai konsentrasi yang ditunjukkan dengan nilai P = 0.00 yang berarti > 0.05. Dilihat dari segi pertumbuhan koloni bakteri, hasil yang tertinggi berada pada konsentrasi 12g dengan rata-rata pertumbuhan $82,5 \times 10^{12}$ cfu/mL jika dibandingkan dengan kontrol positif yang menggunakan EMB Agar dengan rata-rata pertumbuhan 51×10^{12} cfu/mL. Pada konsentrasi 4g, 8g, 10g dan 12g pertumbuhan *Escherichia coli* mengalami peningkatan. Hal tersebut dikarenakan nutrisi atau sumber protein yang terkandung dalam serbuk kacang kedelai hitam yang tinggi, dan kandungan nutrisi yang lain yang melimpah seperti karbohidrat, vitamin dan mineral¹. Dan variasi serbuk kacang kedelai hitam yang digunakan semakin banyak, sehingga proses metabolisme bakteri akan berlangsung cepat dan optimal.

Hasil pengolahan data uji anova one way menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni *Escherichia coli* yang tumbuh di media EMB Agar (kontrol positif) dan media alternatif kacang kedelai dengan berbagai konsentrasi yang ditunjukkan dengan nilai $P = (> 0,05)$. Dari data grafik pengaruh pemeriksaan per konsentrasi terhadap diameter koloni bakteri *Escherichia coli* pada kontrol positif didapatkan hasil rata-rata sebesar 0,2 cm. Konsentrasi 4g didapatkan rata-rata hasil yaitu sebesar 0,15 cm. Pada konsentrasi 6g didapatkan hasil yaitu sebesar 0,25 cm. Pada konsentrasi 8g didapatkan hasil yaitu sebesar 0,245 cm. Pada konsentrasi 10g didapatkan hasil yaitu sebesar 0,275 cm. Pada konsentrasi 12g didapatkan hasilnya itu sebesar 0,4 cm. Berdasarkan dari grafik pengaruh pemeriksaan per konsentrasi terhadap diameter koloni bakteri *Escherichia coli* menunjukkan tidak ada pengaruh. Hal ini sesuai dengan penelitian Anisah, dkk, (2015) mengungkapkan kandungan nutrisi yang melimpah, proses metabolisme bakteri akan berlangsung optimal sehingga proses pembelahan sel berjalan baik yang dapat menyebabkan ukuran koloni semakin besar.

Dilihat dari segi diameter dan karakteristik koloni, hasil yang paling baik adalah pada konsentrasi 12g dengan karakteristik koloni yang sama dengan kontrol positif yaitu bulat, kecil, koloni tunggal, tepi penuh, elevasi cembung, berwarna hitam, tetapi hanya berbeda pada ukuran diameter koloni yang lebih besar dengan rata-rata sebesar 0,4 cm jika dibandingkan dengan rata-rata diameter koloni pada kontrol positif sebesar 0,2 cm.

Hasil pengolahan data uji anova one way menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada diameter koloni *Escherichia coli* yang tumbuh di media EMB Agar (kontrol positif) dan media alternatif kacang kedelai hitam dengan berbagai konsentrasi yang ditunjukkan dengan nilai $P = 0.000$ yang berarti > 0.05 . Berdasarkan dari grafik pengaruh perubahan konsentrasi terhadap jumlah koloni per replikasi dan grafik perubahan konsentrasi terhadap diameter koloni per replikasi dari hasil yang didapatkan menyatakan tidak ada pengaruh karena bakteri tersebut sedang berada pada fase adaptasi yaitu ketika bakteri dipindahkan ke lingkungan baru maka ia akan mengalami proses adaptasi meliputi sintesis zimbaru yang berbeda dengan media tumbuh sebelumnya dan pemulihan terhadap metabolik yang bakteri *Escherichia coli* menunjukkan tidak ada pengaruh. Hal ini sesuai dengan penelitian Anisah, dkk, (2015) mengungkapkan kandungan nutrisi yang melimpah, proses metabolisme bakteri akan berlangsung optimal sehingga proses pembelahan sel berjalan baik yang dapat menyebabkan ukuran koloni semakin besar.

Dilihat dari segi diameter dan karakteristik koloni, hasil yang paling baik adalah pada konsentrasi 12g dengan karakteristik koloni yang sama dengan kontrol positif yaitu bulat, kecil, koloni tunggal, tepi penuh, elevasi cembung, berwarna hitam, tetapi hanya berbeda pada ukuran diameter koloni yang lebih besar dengan rata-rata sebesar 0,4 cm jika dibandingkan dengan rata-rata diameter koloni pada kontrol positif sebesar 0,2 cm.

Hasil pengolahan data uji anova one way menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada diameter koloni *Escherichia coli* yang tumbuh di media EMB Agar (kontrol positif) dan media alternatif kacang kedelai hitam dengan berbagai konsentrasi yang ditunjukkan dengan nilai $P = 0.000$ yang berarti > 0.05 . Berdasarkan dari grafik pengaruh perubahan konsentrasi terhadap jumlah koloni per replikasi dan grafik perubahan konsentrasi terhadap diameter koloni per replikasi dari hasil yang didapatkan menyatakan tidak ada pengaruh karena bakteri tersebut sedang berada pada fase adaptasi yaitu ketika bakteri dipindahkan ke lingkungan baru maka ia akan mengalami proses adaptasi meliputi sintesis zimbaru yang berbeda dengan media tumbuh sebelumnya dan pemulihan terhadap metabolik yang bersifat toksik seperti asam, alkohol dan basa. Respon adaptasi dapat dikarenakan kekurangan nutrient pada media⁴.

Didapatkan juga hasil pengujian identifikasi bakteri guna membuktikan atau mempertegas bahwa bakteri yang tumbuh pada media alternatif kacang kedelai hitam tersebut benar bakteri *Escherichia coli*. Pada uji TSIA didapatkan hasil positif yang ditandai dengan lereng acid, dasar acid, H_2S negatif (-) dan terdapat gas. Pada uji gula-gula didapatkan hasil glukosa positif (+), laktosa positif (+), manosa positif (+), sukrosa negatif (-), maltose positif (+). Pada uji MR/VP didapatkan hasil MR positif (+) dan VP negatif (-). Pada uji citrate didapatkan hasil negatif (-). Pada uji indol didapatkan hasil positif (+). Pada uji urea didapatkan hasil negatif (-). Pada uji Mueller didapatkan hasil positif (+).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang didapat menunjukkan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 4g rata-rata jumlah koloni 32,75. Pada konsentrasi 6g rata-rata jumlah koloni 14. Pada konsentrasi 8g rata-rata jumlah koloni 60,28. Pada konsentrasi 10g rata-rata jumlah koloni 71,5 dan pada konsentrasi 12g rata-rata jumlah koloni 82,5. Berdasarkan karakteristik koloninya dari konsentrasi 4g-12g yaitu bulat, kecil, koloni tunggal, tepinya penuh, elevasinya cembung, berwarna hitam, bersifat gram(-), bentuknya basil dan berwarna merah. Media pertumbuhan alternatif kacang kedelai hitam hasil pengolahan data uji anova one way menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni *Escherichia coli* yang tumbuh di media EMB Agar (kontrol positif) dan media alternatif kacang kedelai dengan berbagai konsentrasi. Terdapat pula

perbedaan yang signifikan juga pada diameter koloni *Escherichia coli* yang tumbuh di media EMB Agar (kontrol positif) dan media alternatif kacang kedelai hitam dengan berbagai konsentrasi.

Tidak ada pengaruh jumlah koloni terhadap konsentrasi kacang kedelai hitam yang digunakan karena syarat media pertumbuhan adalah menumbuhkan koloni bakteri, faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri antara lain suhu dan pH. Dapat disimpulkan bahwa kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan menunjukkan hasil yang semakin meningkat. Sehingga media kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) dapat digunakan untuk mengurangi penggunaan media EMB Agar dalam pembiakan bakteri dan bahan yang digunakan tidak sensitive lagi terhadap udara atau higroskopis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adrianto T, NI. Budidaya Dan Analisis Usaha Tani Kedelai, Kacang Hijau, Kacang Panjang. Absolut Yogyakarta. 2004; 43-60.
2. Arulanantham R, Pathmanathan S, Ravimannan N, Niranjan K. Alternative Culture Media For Bacterial Growth Using Different Formulation Of Protein Sources. Scholars Research Library J. Nat. Prod. Plant Resour. 2012; 697-700.
3. Hidayati SN, Darmawi, Rosmaidar, Armansyah T, Dewi M, Jamin F. Pertumbuhan Escherichia Coli Yang Diisolasi Dari Feses Anak Ayam Broiler Terhadap Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* [Wight.] Walp.). Jurnal Medika Veterinaria. 2016; Vol. 10 No. 2, 101-104
4. Jawetz, Melnick & Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Salemba Medika: 2005.
5. Lukito AB, Goretti M, Goeltom MT. Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Dan Dekolorisasi Senyawa Pewarna Strawberry Red Dan Orange Yellow Dalam Kondisi Curah. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya. 2013; Vol.2 No.1: 1-16.
6. Millah S, Anjani G. Substitusi Tepung Kedelai Hitam Pada Mie Basah Pada Penderita Hiperkolesterolemia. Journal Of Nutrition College. 2017; 156-163.
7. Perko B. Effect Of Prolonged Storage And Microbiological Quality Of Raw Milk. Microbiological Quality Of Raw Milk. Mjekar Stvo. 2011; 61(2): 114-124.
8. Prasiddhanti L, Wahyuni A. Karakter Permukaan Escherichia Coli Yang Diisolasi Dari Susu Kambing Peternakan Ettawah Yang Berperan Terhadap Kemampuan Adesi Pada Sel Epitelium Ambing. Sain Veteriner. 2015; Issn: 0126-0421: 29-41.
9. Suardana I, B S, D W L. Isolasi Dan Identifikasi Escherichia Coli O157:H7 Pada Daging Sapi Di Kabupaten Bandung Provinsi Bali. J. Vet. 2007; 8 (1): 16-23.
10. Sujaya I N. Penuntun Praktikum Mikrobiologi. Untuk Kalangan Internal Program Studi Ilmu Kesehatan Masyarakat Universitas Udayana. 2017; 1-26.
11. Uzeh R, S O, A, S O A O. Production Of Peptone From Soya Beans (*Glycine Max L Merr*) And African Locust Beans (*Parkia Biglobosa*). African Journal Of Biotechnology. 2006; Vol.5 (18): Pp. 1684-1686
12. Wibowo A, Purwanti S, Raban R. Pertumbuhan Dan Hasil Benih Kedelai Hitam (*Glycine Max (L.) Merr*) Mallika Yang Ditanam Secara Tumpang Sari Dengan Jagung Manis (*Zea Mays* Kelompok Saccharata). Fakultas Pertanian Gadjah Mada. 2011.
13. Yulianti E, Respati NY, Rakhmawati A. Optimasi Suhu Dan Ph Media Pertumbuhan Bakteri Pelarut Fosfat Dari Isolat Bakteri Termofilik. Jurnal Prodi Biologi. 2017; Vol 6 No 7 : 1-8.