

PEMANFAATAN SERBUK KACANG KEDELAI (*Glycine max*) SEBAGAI BAHAN PEMBUATAN MEDIA MANITOL SALT AGAR (MSA) UNTUK PERTUMBUHAN BAKTERI STAPHYLOCOCCUS

R. SUHARTATI^{1*}, SULISTIANI², AI NURAINI³

Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKes BTH Tasikmalaya
Email¹: rsuhartati@stikes-bth.ac.id

Abstrak : Kacang kedelai memiliki kandungan protein sekitar 40% mengandung asam amino esensial dan non esensial, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral. Kacang kedelai banyak digunakan sebagai bahan baku dalam membuat makanan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah serbuk kacang kedelai dapat dimanfaatkan sebagai alternatif sumber protein dalam media MSA (*Manitol Salt Agar*) untuk pertumbuhan bakteri patogen yaitu *Staphylococcus*. Penelitian bersifat eksperimen, menggunakan serbuk kacang kedelai dengan variasi berat yang digunakan mulai dari 2 gram sampai 6 gram sebagai sumber protein dalam pembuatan media MSA. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa serbuk kacang kedelai dapat menumbuhkan bakteri *Staphylococcus* mulai dari 3 gram/ 100 mL sampai 6 gram/ 100 mL, hasil penelitian menunjukkan bahwa serbuk kacang kedelai dapat dimanfaatkan sebagai salah satu sumber protein untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus*.

Kata kunci : Manitol Salt Agar, Kacang Kedelai, Bakteri *Staphylococcus*.

1. LATAR BELAKANG

Mikroorganisme membutuhkan suatu media sebagai tempat pertumbuhannya, media tersebut harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Nutrisi dapat berupa molekul besar seperti Karbohidrat, Lemak dan Protein, asam nukleat, vitamin dan beberapa mineral seperti unsur makronutrien C, H, O, N, P dan S serta unsur mikronutrien seperti K, Ca, Mg, Fe, Cl, Mn, Cu (Dwijoseputro, 2010).

Ketersediaan nutrisi untuk diagnosis bakteri *Staphylococcus* membutuhkan media yang dapat menumbuhkan bakteri kelompok *Staphylococcus* dan menghambat pertumbuhan bakteri lain selain *Staphylococcus*. Media Manitol Salt Agar (MSA) saat ini merupakan media yang banyak digunakan untuk menumbuhkan bakteri kelompok *Staphylococcus*. Media MSA bersifat selektif mampu menghambat pertumbuhan bakteri selain *Staphylococcus* dengan zat penghambat garam NaCl 7,5% sehingga bakteri lain dari kelompok Gram negatif dan Gram positif seperti *Streptococcus* dihambat.

Media MSA mengandung bacto ekstrak daging, bacto pepton, NaCl, bacto *phenol red*, manitol dan bacto agar. Media MSA mengandung nutrisi atau protein bahan dasar bacto ekstrak daging dan bacto pepton (Safitri, 2010). Ekstrak daging sapi dan pepton digunakan sebagai bahan dasar karena merupakan sumber protein, nitrogen, yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme.

Bahan untuk membuat media MSA berbentuk redihart (sudah jadi) memiliki harga yang relatif mahal dan media tersebut banyak diproduksi oleh perusahaan asing. Indonesia memiliki sumber daya alam yang melimpah, beberapa diantaranya terdapat protein nabati yang dapat menggantikan bahan bacto ekstrak daging dan bacto pepton pembuatan media MSA. Sumber protein alternatif tersebut dapat diperoleh dari kacang kedelai, bahan ini merupakan bahan yang mudah didapat dan tidak memerlukan biaya yang mahal.

Kacang kedelai merupakan protein lengkap, murah, dan merupakan salah satu bahan makanan yang mengandung jenis asam amino esensial dan non esensial karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral (Nurhayati; Desinar, 2013).

Peneliti sebelumnya berhasil menumbuhkan bakteri *Sallmonela typhi* dan *S.aureus* dari sumber protein nabati kacang - kacang yaitu kacang tanah sebagai alternatif sumber nutrisi atau protein yaitu bacto ekstrak daging dan bacto pepton dengan serbuk kacang tanah dalam media AN (Agar Nutrien). Variasi serbuk kacang tanah yang digunakan adalah 2 gram, 3 gram, 4 gram, 5 gram dan 6 gram. Berat minimal serbuk kacang tanah yang dapat menumbuhkan bakteri *S.typhi* adalah 6 gram/ 100 mL, dan berat minimal kacang tanah yang dapat menumbuhkan bakteri *S.aureus* adalah 5 gram/ 100 mL (Anisa, 2010).

2. METODE PENELITIAN

Cara kerja

a. Sterilisasi Alat

Alat - alat gelas seperti cawan petri, erlenmeyer yang akan digunakan dicuci, kemudian dikeringkan dan cawan petri disterilkan pada oven dengan 180°C selama 2 jam, dan untuk sterilisasi ose caranya dengan membakar diatas api lampu spiritus (Soemarno, 1987).

b. Preparasi pembuatan serbuk kacang kedelai

Pembuatan serbuk kacang kedelai

- 1) Kacang kedelai disortasi dipilih untuk memilih kedelai yang baik (utuh bulat, tidak pecah), membuang benda asing dan kedelai yang rusak atau pecah.
- 2) Kacang kedelai direndam selama 8 - 10 jam. Setelah itu, kedelai ditiriskan dan dipisahkan kulitnya.
- 3) Kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 50 °C selama 24 jam.
- 4) Kemudian digiling atau diblender halus sehingga diperoleh tepung kedelai, kemudian disaring (Koswara, 1993).

c. Pembuatan Media MSA berbahan baku serbuk kacang kedelai

- 1) Timbang serbuk kacang kedelai dengan variasi penimbangan sebanyak 2 gram, 3 gram, 4 gram, 5 gram, dan 6 gram dan masukan kedalam erlenmeyer 250 yang telah diberi label variasi 2 gram, 3 gram, 4 gram, 5 gram, dan 6 gram.
- 2) Tambahkan masing - masing 7,5 gram NaCl, 1 gram manitol, 0,0025 gram bacto *phenol red*, 1,5 gram bacto agar dan 100 mL aquades pada erlenmeyer yang telah diberi label variasi 2 gram, 3 gram, 4 gram, 5 gram, dan 6 gram.
- 3) Kemudian panaskan diatas *hot plate* sambil diaduk sampai larut.
- 4) Ukur pH pada media dan disesuaikan menjadi $\pm 7,4$, jika tidak netral maka dapat ditambahkan HCl / NaOH.
- 5) Tutup lubang erlenmeyer dengan sumbat kapas yang dibungkus dengan kain kasa, dan labu erlenmeyer dibungkus dengan kertas payung dan diseterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 6) Larutan yang sudah steril dimasukan kedalam cawan petri yang steril ± 15 mL, dan biarkan sampai dengan dingin dan siap untuk digunakan.

Tabel 2.1

Komposisi media MSA serbuk kacang kedelai per 100 mL

No	Variasi	Komposisi media MSA serbuk kacang kedelai
1.	2 gram	2 gram serbuk kacang kedelai + 7,5 gram NaCl + 1 gram manitol + 0,0025 gram <i>phenol red</i> + 1,5 gram bacto agar + 100 mL aquades.
2.	3 gram	3 gram serbuk kacang kedelai + 7,5 gram NaCl + 1 gram manitol + 0,0025 gram <i>phenol red</i> + 1,5 gram bacto agar + 100 mL aquades.
3.	4 gram	4 gram serbuk kacang kedelai + 7,5 gram NaCl + 1 gram manitol + 0,0025 gram <i>phenol red</i> + 1,5 gram bacto agar + 100 mL aquades.
4.	5 gram	5 gram serbuk kacang kedelai + 7,5 gram NaCl + 1 gram manitol + 0,0025 gram <i>phenol red</i> + 1,5 gram bacto agar + 100 mL aquades.
5.	6 gram	6 gram serbuk kacang kedelai + 7,5 gram NaCl + 1 gram manitol + 0,0025 gram <i>phenol red</i> + 1,5 gram bacto agar + 100 mL aquades.

d. Pembuatan Media Rehidrat MSA (Oxoid)

- 1) Timbang sebanyak 5,55 gram media MSA.
- 2) Masukan kedalam gelas kimia 100 mL, tambahkan aqudest sebanyak 50 mL.
- 3) Kemudian panaskan diatas *hot plate* sambil diaduk sampai larut.
- 4) Tutup lubang erlenmeyer dengan sumbat kapas yang dibungkus dengan kain kasa, dan erlenmeyer dibungkus dengan kertas payung dan diseterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 5) Larutan yang sudah steril dimasukan kedalam cawan petri yang steril ± 15 mL, dan biarkan sampai dengan dingin dan siap untuk digunakan (Novel, 2010).

e. Persiapan Strain *Staphylococcus*

- 1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 2) Ambil biakan dari strain murni *S.aureus* $\pm 1 - 2$ ose, kemudian ratakan pada objek glass (diabuat sediaan) keringkan dan fiksasi.
- 3) Lakukan pewarnaan Gram
 - a) Sediaan yang telah difiksasi dibubuhi dengan larutan kristal violet selama 1 menit, cuci dengan air kran.
 - b) Tetesi lugol dan diamkan selama 1 menit, cuci dengan air kran.
 - c) Tetesi dengan alkohol 70% selama 20 - 30 detik, cuci dengan air kran.
 - d) Kemudian tetesi dengan safranin selama 30 detik, cuci dengan air kran dan keringkan.
 - e) Lihat hasil morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x.
 - f) Hasil *S.aureus* akan terlihat bentuk *coccus* bergerombol seperti buah anggur dan berwarna ungu.
- 4) Diambil 1 - 2 ose dari biakan starin murni *S.aureus* lalu tanam pada media MSA, dengan cara digores di permukaan media.
- 5) Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- 6) Amati morfologi koloni yang tumbuh pada media MSA.
- 7) Lakukan pewarnaan Gram dari koloni tersangka dari media MSA (Hadioetomo, 1990).

f. Inokulasi *Staphylococcus* Pada Media MSA Serbuk Kacang Kedelai

- 1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 2) Ambil 1 - 2 ose dari biakan starin murni *S.aureus* lalu tanam pada media MSA serbuk kacang kedelai pada cawan yang diberi label variasi 2 gram, 3 gram, 4 gram, 5 gram, dan 6 gram .
- 3) Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- 4) Amati morfologi ciri - ciri koloni yang tumbuh pada masing masing media MSA serbuk kacang kedelai pada variasi 2 gram, 3 gram, 4 gram, 5 gram, dan 6 gram (Hadioetomo, 1990).

g. Penanaman Bakteri Kontrol Gram Negatif pada media MSA Serbuk kacang kedelai

- 1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 2) Ambil 1 - 2 ose dari masing masing biakan starin murni *Eschericia coli* lalu tanam pada masing masing media MSA serbuk kacang kedelai pada cawan yang diberi label variasi 2 gram,3 gram, 4 gram, 5 gram, dan 6 gram .
- 3) Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- 4) Amati pertumbuhan bakteri pada media MSA serbuk kacang kedelai pada variasi 2 gram,3 gram, 4 gram, 5 gram, dan 6 gram (Hadioetomo, 1990).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Berdasarkan hasil penelitian serbuk kacang kedelai (*Glycine max*) dapat digunakan sebagai alternatif sumber protein dalam pembuatan media MSA, Hal tersebut dapat dibuktikan dengan tumbuhnya koloni bakteri *Staphylococcus* yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* pada media MSA yang ditambahkan serbuk kacang kedelai. Dengan variasi serbuk kacang kedelai yang digunakan 2 gram, 3 gram, 4 gram, 5 gram dan 6 gram.

Berdasarkan analisa pengamatan serbuk kacang kedelai dapat digunakan sebagai sumber alternatif protein (bacto ekstrak daging dan bacto pepton) pada media MSA mulai dari variasi 2 gram, hal tersebut dapat dilihat hasil pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Hasil Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus* pada media MSA Serbuk kacang kedelai

No	Variasi	Pertumbuhan <i>S. aureus</i>	Pertumbuhan <i>S. epidermidis</i>
1.	2 gram	Kurang subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 1-2 mm, Warna koloni kuning, bersifat manitol fermenter lemah	Kurang subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 1-2 mm, Warna koloni putih, warna media merah, bersifat non manitol fermenter
2.	3 gram	Kurang subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 1-2 mm, Warna koloni kuning, bersifat manitol fermenter lemah	Subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 2-4 mm, Warna koloni putih, warna media merah, bersifat non manitol fermenter
3.	4 gram	Subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 2-4 mm, Warna koloni kuning, bersifat manitol fermenter	Subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 2-4 mm, Warna koloni putih, warna media merah, bersifat non manitol fermenter
4.	5 gram	Subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 2-4 mm, Warna koloni kuning, bersifat manitol fermenter	Subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 2-4 mm, Warna koloni putih, warna media merah, bersifat non manitol fermenter
5.	6 gram	Subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 2-4 mm, Warna koloni kuning, bersifat manitol fermenter	Subur, Morfologi koloni : Bulat, smooth, diameter 2-4 mm, Warna koloni putih, warna media merah, bersifat non manitol fermenter

Pembahasan

Hasil pertumbuhan bakteri *S.aureus* mulai tumbuh membentuk koloni pertumbuhan bakteri *S.aureus* kurang subur pada variasi 2 gram dan 3 gram, dan kurang memfermentasikan manitol sehingga media MSA serbuk kacang kedelai tetap berwarna merah agak kekuningan, perbedaan pertumbuhan bakteri ini dikarenakan sumber nutrisi atau protein serbuk kacang kedelai tidak mencukupi nutrisi protein yang dibutuhkan, sehingga pertumbuhana bakteri *S.aureus* kurang baik atau proses metabolisme bakteri berlangsung kurang optimal dan pertumbuhannya tidak seoptimal media MSA standar.

Sedangkan pertumbuhan bakteri *S.epidermidis* yang subur mulai dari variasi 3 gram sampai 6 gram dengan tidak memfermentasikan manitol maka koloni yang tumbuh dan pada media MSA terjadi perubahan warna merah setelah ditanami bakteri *S.epidermidis*. disebabkan karena *S.epidermidis* tidak memfermentasikan manitol menjadi asam dan gas, menyebabkan pH media menjadi basa, indikator *phenol red* yang terdapat dalam media berubah menjadi merah (Safitri, 2010).

Pada media MSA serbuk kacang kedelai ini, menunjukkan hasil optimal dan sebanding dengan media MSA standar (Oxoid) dapat dilihat dalam hal ukuran, bentuk koloni, warna, elevasi, permukaan, pinggir dan sifat *manitol fermenter*. Koloni yang terbentuk terlihat besar dan nyata serta mudah diamati. Hal tersebut dikarenakan nutrisi atau sumber protein yang terkandung dalam serbuk kacang kedelai yang tinggi, dan kandungan nutrisi yang lain yang melimpah seperti karbohidrat, vitamin dan mineral (Andrianto, 2004). Dan variasi serbuk kacang kedelai yang digunakan semakin banyak, sehingga proses metabolisme bakteri akan berlangsung cepat dan optimal, sehingga proses pembelahan sel berjalan baik yang dapat menyebabkan ukuran koloni semakin besar dan cepat dalam proses memfermentasikan manitol.

Dalam kondisi nutrisi yang baik waktu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri relatif cepat, sebaliknya jika nutrisi yang dibutuhkan tidak melimpah, sel-sel harus menyesuaikan dengan lingkungan dan pembentukan enzim - enzim untuk mengurai substrat membutuhkan waktu yang lebih lama (Anisah; Rahayu, 2005). Hasil pertumbuhan bakteri *Staphylococcus* pada media MSA dapat terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Pertumbuhan Bakteri *S.aureus* pada Media MSA dengan bahan baku Kacang kedelai



Gambar 2. Pertumbuhan Bakteri *S. epidermidis* pada Media MSA dengan bahan baku Kacang kedelai

Pada penelitian ini media MSA serbuk kacang kedelai bakteri kontrol negatif bakteri *Esherichia coli*. Untuk menguji media MSA serbuk kacang kedelai, apakah fungsi media tersebut dalam menghambat bakteri Gram negatif baik atau tidak. Pertumbuhan bakteri pada kontrol negatif yaitu *Esherichia coli* pada media MSA serbuk kacang

kedelai tidak terjadinya pertumbuhan koloni, dan media tetap berwarna orange sama seperti media MSA serbuk kacang kedelai setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam yang tidak ditanam bakteri, hal tersebut disebabkan karena media MSA merupakan media selektif yang memiliki konsentrasi garam NaCl sangat tinggi (7,5%) sebagai penghambat pertumbuhan bakteri lainnya. Kebanyakan bakteri tidak dapat bertahan hidup dilingkungan dengan kadar garam sangat tinggi (hipertonik), kecuali genus *Staphylococcus* mampu adaptasi dengan lingkungan tinggi kadar garam dan tumbuh baik di media MSA ini (Saftri, 2010). Sedangkan *E.coli* termasuk bakteri Gram negatif, dan tidak tahan terhadap kadar garam yang sangat tinggi. Sehingga *E. coli* tidak dapat tumbuh dan fungsi media MSA sebagai media selektif dengan sumber protein diganti serbuk kacang kedelai berfungsi dengan baik.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kacang kedelai dapat digunakan sebagai bahan alternatif sumber protein pengganti bacto beef ekstrak daging sapi dan bacto pepton untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus*.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Kami ucapkan terimakasih kepada :

1. Ketua STIKes BTH Tasikmalaya,
2. Ketua Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medik
3. Ketua Pusat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat STIKes BTH Tasikmalaya

Atas bantuan dan kerjasama dalam program penelitian dosen STIKes BTH Tasikmalaya tahun 2017.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Andrianto, T. T., dan N. Indarto., *Budidaya dan Analisis Usaha Tani Kedelai, Kacang Hijau, Kacang Panjang, Absolut*; Yogyakarta, 2004.
- Anisa Ayu. *Pemanfaat Serbuk Kacang Kedelai sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Sallmonela typhy*, Jurnal Politeknik Kesehatan; Bandung, 2010.
- Anisah dan Rahayu, *Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda*. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, 2015. Diakses pada 01 Juni 2016 <https://eprints.ums.ac.id/38852/21/NASKAH/%20PUBLIKASI.pdf>.
- Dwidjoseputro, *Dasar Dasar Mikrobiologi*, Djambatan; Jakarta, 2010.
- Hadioetomo Sari Ratna, *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*, PT. Gramedia; Jakarta, 1990.
- Koswara, Sutrisno, *Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu*, Penebar Swadaya; Jakarta 1992.
- Novel Sinta Sasika, *Praktikum mikrobiologi dasar*, Trans Info Medika; Jakarta, 2010.
- Nurhayati, Desinar, *Pembuatan Pepton secara enzimatis menggunakan bahan baku jeroan ikan tongkol*, JPPHI Vol. 16.No. 1, 2013
- Safitri Ratu dan Sinta Sasika, *Medium Analisis Mikroorganisme*, CVTrans Info Medika; Jakarta, 2010.
- Soemarno, *Penuntun Praktikum Bakteriologi*, CV.Karyono; Yogyakarta, 1987.