
PENGGUNAAN SARI KACANG HIJAU DAN KEDELAI SEBAGAI MEDIA ALAMI PERTUMBUHAN *Bacillus subtilis*

Lutfi Chomariyati Apriliyah*, Sitti Nur Ilmiah

Universitas Billfath, Kompleks Pondok Pesantren Al Fatah, Siman, Kec. Sekaran, Kabupaten Lamongan, Jawa Timur 62261, Indonesia

*e-mail korespondensi:
utfichomaapriliah25@gmail.com
*sittinur_ilmiah@yahoo.com

Abstrak. Media sintetik merupakan jenis media yang dapat digunakan untuk perbanyakan mikroorganisme. Penggunaan media sintetik memiliki kendala yaitu harga bahan yang cukup mahal. Untuk mengurangi biaya penggunaannya, maka dapat mencari alternatif dengan menggunakan bahan dari alam. Kacang hijau dan kacang kedelai dapat digunakan sebagai media alternatif untuk menumbuhkan mikroorganisme. Tujuan penelitian ini adalah menghitung jumlah koloni *Bacillus subtilis* dalam media alami berupa sari kacang hijau dan kacang kedelai. Metode penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menumbuhkan *Bacillus subtilis* ke dalam media sari kacang hijau dan kacang kedelai selanjutnya untuk menghitung jumlah koloni yang tumbuh menggunakan metode lempeng total atau total plate count (TPC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* mampu tumbuh dalam media sari kacang hijau dengan jumlah koloni 1.7×10^{10} CFU/mL sedangkan untuk sari kacang kedelai terdapat jumlah koloni sebesar 4.5×10^8 CFU/mL. Berdasarkan hasil koloni yang didapatkan dari kedua media alternatif tersebut menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* mampu ditumbuhkan dalam media sari kacang hijau dan kacang kedelai.

Kata kunci: *Bacillus subtilis*, media alami, sari kacang hijau, sari kacang kedelai, TPC.

Abstract. Synthetic media is a type of media that can be used to propagate microorganisms. The use of synthetic media has an obstacle, namely the price of materials which is quite expensive. To reduce the cost of its use, it can find alternatives by using materials from nature. Mung beans and soybeans can be used as substitute media to grow microorganisms. The purpose of this study was to calculate the number of *Bacillus subtilis* colonies in natural media in the form of mung bean juice and soybean as a natural media. The research method was carried out experimentally by growing *Bacillus subtilis* into mung bean and soybean juice media and then counting the number of colonies that grew using the total plate count (TPC) method. The results showed that *Bacillus subtilis* was able to grow in mung bean juice media with a colony count of 1.7×10^{10} CFU/mL while for soy bean juice there was a colony count of 4.5×10^8 CFU/mL. Based on the colony results obtained from the two alternatives media, shows that *Bacillus subtilis* can be grown in mung bean and soybean juice media.

Keywords: *Bacillus subtilis*, natural media, mung bean juice, soy bean juice, TPC.



PENDAHULUAN

Media pertumbuhan merupakan salah satu bahan terpenting untuk menumbuhkan mikroorganisme. Mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik dalam media yang mengandung cukup nutrisi. Nutrisi menjadi salah satu faktor terpenting untuk menunjang mikroorganisme. Media pertumbuhan sangat diperlukan oleh sel mikroorganisme untuk dapat memperbanyak diri melalui proses pembelahan yang terjadi. Kondisi ini dapat terjadi jika nutrisi dan faktor lingkungan terpenuhi dengan baik. Media sintetik merupakan salah satu media yang paling sering digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme. Komposisi media yang sudah diketahui membuat media tersebut sering digunakan. Hal ini membuat penggunaan media sintetik lebih efisien jika dibandingkan dengan media alami. Namun, harga media sintetik yang mahal membuat banyak pakar melakukan upaya pencarian media alternatif menggunakan media dari bahan alami dengan harga yang lebih terjangkau. Juariah dan Sari (2018) menyatakan bahwa dengan kondisi harga media sintetik yang mahal maka dapat beralih menggunakan media alami sebagai media pertumbuhan mikroorganisme. Penggunaan media alami juga ditunjang oleh keberadaan sumberdaya alam yang melimpah sehingga biaya produksi akan lebih murah. Melalui penggunaan media alami juga dapat menjadi alternatif dalam pemanfaatan sumber alam.

Media pertumbuhan alternatif yang dapat digunakan untuk perbanyakkan sel bakteri adalah media yang berasal dari sari kacang hijau dan kacang kedelai. Danela *et al.* (2019) menyatakan bahwa kacang kedelai dapat digunakan sebagai media alami karena memiliki kandungan protein. Protein alternatif dalam kacang kedelai berperan sebagai sumber N sehingga kebutuhan nitrogen dapat terpenuhi untuk pertumbuhan mikroorganisme. Pencarian pengganti media sintetik dengan media alami telah dilakukan dengan menggunakan biji-bijian dari suku

Leguminoseae yaitu berupa kacang tunggak, kacang hijau, kacang kedelai hitam dan kedelai sebagai media pertumbuhan bagi bakteri seperti *Escherichia coli*, *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp., *Klebsiella* sp., dan *Pseudomonas* sp. (Juariah dan Sari 2018).

Kacang-kacangan yang digunakan untuk media alami memiliki sumber nutrisi yang cukup bagi bakteri. Kandungan protein yang ada dalam kacang-kacangan diharapkan dapat menunjang pertumbuhan bakteri dengan memberikan hasil yang sama dengan menggunakan media NA (Zamilah *et al.* 2020). Menurut Danela *et al.* (2019) tanaman yang termasuk dalam suku Leguminoseae memiliki kandungan protein sebesar 20-25%.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian dengan memanfaatkan media alami yang berasal dari kacang kedelai dan kacang hijau untuk pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Tujuan dari penelitian ini adalah mencari sumber nutrisi dari media alternatif yang lebih ekonomis sehingga menekan biaya penggunaan media sintetik. Penggunaan *Bacillus subtilis* sebagai agen hayati dalam penelitian ini menjadi alasan untuk memanfaatkan peran bakteri tersebut dalam bidang pertanian.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif, yang bertujuan untuk melihat kemampuan media alternatif sari kacang hijau dan sari kacang kedelai sebagai media perbanyakkan bakteri *Bacillus subtilis*. Pengujian dilakukan menggunakan metode hitung cawan (*Total Plate Count*) (Zamilah *et al.* 2020) yang telah dimodifikasi.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam menunjang penelitian ini adalah tabung reaksi, cawan petri, *stirrer*, *hot plate*, *laminar air flow*, autoklaf, rak tabung reaksi, jarum ose, bunsen, erlenmeyer, gelas beaker, mesin aerator, galon fermentor, kompor, panci, kertas label, dan *cling wrap*. Sedangkan bahan yang adalah kacang kedelai (*Glycine max*),

kacang hijau (*Vigna radiate* L.), *Bacillus subtilis*, nutrient agar (NA), gula, aquades, alkohol 70%, kapas, aluminium foil.

Prosedur penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi: sterilisasi alat dengan mencuci seluruh peralatan sampai bersih lalu dikeringkan. Alat-alat tersebut selanjutnya dibungkus dengan aluminium foil. Sterilisasi dilakukan dalam oven selama 1 jam dengan suhu 170°C. Selanjutnya, alat-alat tersebut dikeringanginkan (Ramadhan *et al.* 2021).

Pembuatan media Nutrient Agar (NA) dilakukan dengan melarutkan sebanyak 5,6 gram NA dengan 200 mL aquades. Selanjutnya Campuran dihomogenkan menggunakan batang pengaduk di atas *hot plate*. Media yang sudah homogen dan telah tertutup kapas disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Media yang sudah steril dituang dalam cawan petri secara aseptik dan ditunggu hingga memadat (Ramadhan *et al.* 2021).

Pembuatan media alternatif dengan mencuci bersih masing-masing 500 gram kacang hijau dan kacang kedelai sebanyak 2-3 kali bilasan. Kacang hijau dan kacang kedelai yang telah bersih dituang ke dalam panci dan ditambah air dengan volume 3 liter lalu direbus hingga mendidih. Jika air sudah mendidih maka kompor dapat dimatikan. Selanjutnya tunggu air rebusan tersebut dingin dengan tetap menjaga agar tidak terjadi kontaminasi dengan cara menutup panci dengan penutupnya (Susanti *et al.* 2022) yang telah dimodifikasi. Selanjutnya dapat dipersiapkan air rebusan gula dengan cara mencampurkan 1 liter air dengan 500 gram gula. Selanjutnya campuran tersebut dimasak hingga mendidih. Ketika sudah mendidih maka kompor dimatikan dan panci dibiarkan dengan posisi tertutup agar menjaga tidak terkontaminasi (Susanti *et al.* 2022) yang telah dimodifikasi.

Inokulasi *Bacillus subtilis* pada media alternatif sari kacang kedelai dan kacang hijau dilakukan dengan memasukkan air gula ke

dalam masing-masing media sari kacang kedelai dan kacang hijau dengan perbandingan 1:9. Kemudian untuk isolat *Bacillus subtilis* dimasukkan ke dalam masing-masing media: media sari kacang kedelai dan kacang hijau. Selanjutnya inkubasi dilakukan dalam fermentor dilakukan selama 11 hari (Juariah dan Sari 2018) yang telah dimodifikasi.

Perhitungan jumlah total bakteri dilakukan menggunakan metode TPC secara langsung (Susanti *et al.* 2022) yang telah dimodifikasi, yang dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media NA menggunakan biakan murni *Bacillus subtilis*. Penanaman bakteri tersebut dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL kultur dalam masing-masing media sari kacang hijau dan kacang kedelai dan ditempatkan pada tabung steril. Sebanyak 9 mL aquades steril ditambahkan. Dilakukan pengenceran bertingkat hingga pengenceran 10^{-9} . Pada seri pengenceran 10^{-5} , 10^{-7} , dan 10^{-9} dilakukan penanaman pada media agar miring (*plate agar*). Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah masa inkubasi, maka dilakukan perhitungan koloni yang tumbuh pada media. Selanjutnya data amatan diolah menggunakan rumus perhitungan jumlah koloni berdasarkan metode TPC sebagai berikut:

$$\text{Koloni per mL (cfu/mL)} = \sum \text{koloni percawan} \times \frac{1}{\text{FP}}$$

Keterangan:

FP : faktor pengenceran

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada media yang mengandung sari kacang kedelai dan kacang hijau menunjukkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah koloni *Bacillus subtilis*

Perlakuan	Jumlah koloni (CFU/mL)
Kacang kedelai	1.7×10^{10}
Kacang hijau	4.5×10^8

Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* dapat diperbanyak dalam media alami dari sari kacang hijau dan kacang kedelai. Hasil koloni yang tumbuh dalam media sari kacang kedelai sebanyak 1.7×10^{10} Cfu/mL sedangkan pada media sari kacang hijau menunjukkan jumlah koloni sebanyak 4.5×10^8 Cfu/mL. Kedua media tersebut dapat menggantikan media NA ataupun NB yang termasuk media sintetik karena kandungan dari media tersebut. Hal ini tidak terlepas dari nutrisi yang terkandung dari kacang kedelai dan juga kacang hijau. Selain itu, nutrisi juga dapat diperoleh dari larutan gula yang telah ditambahkan dalam masing-masing media.

Patricia *et al.* (2022) menyatakan bahwa dalam 100 gram kacang hijau terdapat 20 miligram kalsium, 0,1 gram *thiamine*, 2,4 miligram vitamin C, 62,2 gram karbohidrat, 22 gram protein, dan 1,20 gram lemak. Menurut Nurhidayati (2022) dalam kacang kedelai terdapat protein dengan jumlah 40,4 gram, 24,9 gram karbohidrat, dan serat sebanyak 3,2 gram. Berdasarkan kandungan nutrisi tersebut menyebabkan pertumbuhan *Bacillus subtilis* dapat meningkat sehingga dapat mempengaruhi jumlah selnya. Menurut Hartono *et al.* (2022) Beberapa kemampuan fisiologis *Bacillus* sp. ditunjukkan melalui kemampuannya dalam memecah pati serta glukosa dan juga mereduksi nitrat. Unsur N dari kandungan protein kacang kedelai yang lebih tinggi dibandingkan dengan kacang hijau dapat menyebabkan jumlah koloni yang dihasilkan lebih banyak karena kebutuhan dalam mereduksi nitrat lebih tinggi. Selain itu, perbedaan jumlah koloni yang tumbuh pada media sari kacang hijau dan kedelai dapat disebabkan karena perbedaan kandungan nutrisi yang ada. Perbedaan kandungan protein antar keduanya dapat menjadi penyebab adanya perbedaan jumlah koloni. Jika dibandingkan dengan kacang hijau, protein pada kacang kedelai lebih tinggi. Hal ini tentu saja akan menghasilkan pertumbuhan sel bakteri yang berbeda. Zamilah *et al.* (2020) menyatakan bahwa

penggunaan media alami dari sumber kacang-kacangan dapat memiliki hasil pertumbuhan jumlah koloni bakteri yang berbeda. Hal ini karena kandungan protein dalam media tersebut. Kandungan protein yang cukup tinggi dapat digunakan sebagai media alternatif bagi pertumbuhan bakteri dengan harapan memiliki kesamaan dengan media NA.

Gula yang ditambahkan dalam media alami dapat berperan sebagai sumber energi bagi *Bacillus subtilis*. Energi dapat diperoleh dari sumber glukosa saat ditambahkan dalam media pertumbuhannya. Energi tersebut dapat digunakan dalam proses pertumbuhan sehingga dapat meningkatkan jumlah pertumbuhan bakteri (Khaerunnisa *et al.* 2019).

Hasil koloni sel bakteri pada Tabel 1. menunjukkan bahwa jumlah sel yang mampu tumbuh pada kedua media alami sesuai dengan standar Permentan tahun 2011 tentang pupuk organik, pupuk hayati, dan pembenahan tanah. Pada peraturan tersebut, standar mutu untuk bakteri yang hidup bebas atau endofit dalam bentuk cair adalah $\geq 10^8$ CFU/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa media alternatif sari kacang kedelai dan sari kacang hijau dapat digunakan sebagai media untuk membuat pupuk hayati sehingga dapat diaplikasikan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Melalui peningkatan jumlah sel *Bacillus subtilis* dalam media tumbuh tersebut selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai pupuk hayati yang dapat diperbanyak dalam media alami. Menurut Nusyirwan dan Syahadah (2020) *Bacillus subtilis* merupakan bakteri endofit yang juga dikenal sebagai agen PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Bakteri tersebut memiliki kemampuan dalam memfiksasi N_2 , menghasilkan senyawa siderofor dan melarutkan fosfat yang merupakan unsur penting dan dibutuhkan oleh tumbuhan selama pertumbuhannya melalui peningkatan beberapa hormon pertumbuhan. Selain itu, *Bacillus subtilis* juga memiliki peran dalam menekan pathogen



tanaman melalui produksi toksin, salah satunya yang terkenal adalah antibiotik subtilin. Toksin ini mampu menekan pertumbuhan patogen dengan menghasilkan kemampuan antagonis pada perakaran (Hersanti *et al.* 2021).

SIMPULAN

Media alami dari sari kacang kedelai dan kacang hijau dapat digunakan sebagai media alternatif dalam menumbuhkan *Bacillus subtilis*. Jumlah koloni yang tumbuh pada media sari kacang kedelai adalah sebesar 1.7×10^{10} Cfu/mL dan untuk media sari kacang hijau sebesar 4.5×10^8 Cfu/mL. Jumlah koloni tersebut sesuai dengan standar mutu Permentan 2011 untuk pupuk hayati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami berikan kepada seluruh staf dan bagian penting Kantor Wilayah Kerja Proteksi Tanaman Pangan dan Holtikultura Bojonegoro yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Danela, S., Gede, L.S & Ariami P. (2019). Kacang Kedelai sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Analisa Medika Bio Sains*. 6(1). Journal homepage: <http://jamb.s.poltekkes-mataram.ac.id/index.php/home/index>.
- Hartono, H.P., Rokhim, S & Faizah H. (2022). Pengaruh Pemberian PGPR *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Asal Akar Bambu Apus terhadap Pertumbuhan tanaman Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Ilmiah Membangun Desa dan Pertanian (JIMDP)*. 9(3):294-304. doi: <https://doi.org/10.37149/jimdp.v9i3.1154>.

- Hersanti, Emilia, N.H., Djaya, L & Yilia, E. (2021). *Bacillus subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. (CK U₃) dalam Serat Karbon dan Silika Nano Menekan Pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan Perkembangan Penyakit Hawar Kecambah Tomat. *Jurnal Agrikultura*. 32(2):135-145. doi: <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v32i2.33387>.
- Juariah, S & Sari, W.P. (2018). Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus* sp. *Jurnal Analisis Kesehatan Klinik Sians*. 6(1):24-29. <http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal>.
- Khaerunnisa, R., Iis, K., Dewi, N & Asep, D. (2019). Pemanfaatan Air Rebusan Umbi Kuning dan Ungu sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Riset Kesehatan*. 11(1):269-276. doi: <https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v11i1.753>.
- Nurhidayanti. (2022). Perbandingan Media Alternatif Kacang Kedelai dan Media Nutrient Agar terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Indobiosains*. 4(2):47-53. doi: <https://doi.org/10.31851/indobiosains.v4i2.7997>.
- Nusyirwan & Syahadah, R.A. (2020). Pengaruh Bakteri Endofit *Bacillus subtilis* dalam Upaya Meningkatkan Hasil Pertumbuhan dan Produksi pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annum* L.). *JBIO: Jurnal Biosains (The Journal of Biosciences)*. 6(2):53-58. doi: <https://doi.org/10.24114/jbio.v6i2.15219>.
- Patricia, V., Hamtini, Yani, A., Choirunnisa, A., Ermala & Indriani. (2022). Potensi Pemanfaatan Jagung, Kacang Hijau, dan Ubi Cilembu sebagai Media Kultur Bakteri *Escherichia coli*. *Care: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*. 10(3):460-468.



- Tersedia online di <https://jurnal.unitri.ac.id/index.php/care>.
- Peraturan Menteri Peranian. (2011). Pupuk Organik, Pupuk Hayati, dan Pembenahan Tanah. <https://psp.pertanian.go.id/storage/545/Permentan-No.-70-Th.-2011-ttg-Pupuk-Organik-Pupuk-Hayati-dan-Pembenah-Tanah.pdf>.
- Ramadhan, W., Juariah, S & Ryani, V.C. (2021). Potensi Ubi Jalar Putih (*Ipomoea batatas linneaus varietas*) sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. 10(1):23-26. doi: <https://doi.org/10.51887/jpfi.v10i1.1163>.
- Susanti, M., Khalimatusa'diah, S & Rasyid, A. (2022). Pemanfaatan Variasi Sumber Karbohidrat dari Palawija sebagai Alternatif Media Sintetik untuk Pertumbuhan Bakteri. *Bio Education: The Journal of Science and Biology Education*.7(2):61-67. doi:<http://dx.doi.org/10.31949/be.v7i2.4365>.
- Zamilah, M., Ruhimat, U & Setiawan, D. (2020). Media Alternatif Kacang Tanah untuk Pertumbuhan Bakteri. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science*. 1(1):57-65. doi: <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v1i1.11>.