

Modified Mocaf Flour (*Modified Cassava Flour*) as alternative Culture Media for Growth Bacteria *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*

Modifikasi Tepung Mocaf (*Modified Cassava Flour*) Sebagai Media Kultur Alternatif Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*

Chylen Setiyo Rlni^{1*}, Ida Agustini Saidi², Jamilatur Rohmah³

¹ Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia, ² Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia, ³ Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Abstract. Media is a means of growth of microorganisms that contain nutrients needed by microorganisms. The high price of media and the use of natural resources that are used as growth media have not been maximized, spurring researchers to find alternative media from local materials such as mocaf flour (*modified cassava flour*) which is a derivative product of cassava. The processing technique uses the principle of fermentation by lactic acid bacteria. Research on alternative media by utilizing natural ingredients has been carried out such as the use of cassava flour as a substitute for agar in microbiological media and alternative culture media derived from fruit and vegetable waste such as (cauliflower stalks, potato peels, orange peels). The purpose of this study was to determine the number of colonies of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* bacteria growing on alternative media of mocaf flour. This research is a laboratory experimental with variations in mass of mocaf flour 1 gram, 2 grams, 4 grams, 6 grams, 8 grams, positive control and negative control, the data obtained were analyzed using the ANOVA test. The results showed that the average number of positive control colonies from *Escherichia coli* bacteria was 22.5×10^5 CFU/mL while the positive control from *Bacillus cereus* was 20.25×10^5 CFU/mL. The highest average value from variations in the concentration of alternative media using mocaf flour (*modified cassava flour*) as much as 8 gram for *Escherichia coli* bacteria of 81×10^5 CFU/mL while for *Bacillus cereus* bacteria of 197.75×10^5 CFU/mL using mocaf flour (*modified cassava flour*) as much as 8 grams. The average value of the lowest colony number of *Escherichia coli* bacteria in 1 gram mocaf flour mass was 7.25×10^5 CFU/mL, for *Bacillus cereus* the lowest average colony value in 2 gram mocaf flour mass was 27×10^5 CFU/mL. Each treatment has a significant value of 0.05, which means that there is no significant difference between NA media and mocaf flour alternative media. Mocaf flour can be used as an alternative medium for bacterial growth.

Keywords: media alternative, mocaf, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*

Abstrak. Media merupakan sarana pertumbuhan mikroorganisme yang mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme. Mahalnya harga media serta pemanfaatan sumber daya alam yang digunakan sebagai media perumbuhan belum maksimal memacu peneliti untuk menemukan media alternatif dari bahan-bahan lokal seperti tepung mocaf (*modified cassava flour*) yang merupakan produk turunan dari singkong. Teknik pengolahannya menggunakan prinsip fermentasi oleh bakteri asam laktat. Penelitian tentang media alternatif dengan memanfaatkan bahan-bahan alami telah dilakukan seperti pemanfaatan tepung singkong sebagai pengganti agar pada media mikrobiologi serta media kultur alternatif yang berasal dari sampah buah dan sayur seperti (tangkai kembang kol, kulit kentang, kulit jeruk). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* yang tumbuh pada media alternatif tepung mocaf. Penelitian bersifat eksperimental laboratorik dengan variasi massa tepung mocaf 1 gram, 2 gram, 4 gram, 6 gram, 8 gram, kontrol positif dan kontrol negatif, data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah koloni kontrol positif dari bakteri *Escherichia coli* sebesar $22,5 \times 10^5$ CFU/mL sedangkan kontrol positif dari bakteri *Bacillus cereus* sebesar $20,25 \times 10^5$ CFU/mL. Nilai rata-rata tertinggi dari variasi konsentrasi media alternatif menggunakan tepung mocaf (*modified cassava flour*) sebanyak 8 gram pada bakteri *Escherichia coli*

sebesar 81×10^5 CFU/mL sedangkan pada bakteri *Bacillus* sebesar $197,75 \times 10^5$ CFU/mL menggunakan tepung mocaf (*modified cassava flour*) sebanyak 8 gram. Nilai rata-rata jumlah koloni terendah dari bakteri *Escherichia coli* pada massa tepung mocaf 1 gram sebesar $7,25 \times 10^5$ CFU/mL, untuk bakteri *Bacillus cereus* nilai rata-rata jumlah koloni terendah pada massa tepung mocaf 2 gram sebesar 27×10^5 CFU/mL. Tiap-tiap perlakuan memiliki nilai signifikan $>0,05$ yang artinya tidak ada perbedaan signifikan antara media NA dengan media alternatif tepung mocaf. Tepung mocaf dapat dijadikan media alternatif untuk pertumbuhan bakteri.

Kata kunci: media alternatif, mocaf, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*

1. Pendahuluan

Pertumbuhan bakteri bergantung pada kandungan nutrisi pada media pertumbuhannya. Media nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme di laboratorium disebut media kultur. Media untuk pertumbuhan mikroorganisme yang tersedia secara komersial seperti Nutrien Agar, MacConkey Agar, EMB harganya sangat mahal. Pemanfaatan sumber daya alam yang digunakan sebagai media perumbuhan belum maksimal serta mahalnya harga media memacu peneliti untuk menemukan media alternatif dari bahan-bahan baku lokal (kentang, sereal, singkong dll) yang mudah didapat dengan harga terjangkau [1]. Penelitian tentang media alternatif dengan memanfaatkan bahan-bahan alami telah dilakukan seperti pemanfaatan tepung singkong sebagai pengganti agar pada media mikrobiologi [2]. Media kultur alternatif berasal dari sampah buah dan sayur (tangkai kembang kol, kulit kentang, kulit jeruk [3]. Penelitian tentang media pertumbuhan bakteri dari sumber karbohidrat berasal dari umbi-umbian seperti garut, ganyong, gembili telah dilakukan [4]. Mikroorganisme hidup diberbagai lingkungan dan beracam-macam jenisnya. Pertumbuhan mikroorganisme tergantung pada nutrisi, pH, kondisi osmotik, suhu. Media kultur mikroba mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme sebagai makanannya. Unsur-unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba antara lain unsur makro seperti C, H, O, N, S, P, K, Ca, Mg, Fe serta unsur mikro seperti Mn, Zn, Co, Mo, Ni, Cu [5].

Tepung mocaf (*modified cassava flour*) merupakan produk turunan dari singkong dengan Teknik pengolahannya menggunakan prinsip fermentasi oleh bakteri asam laktat sehingga karakteristik tepung yang dihasilkan berubah berupa viskositasnya (daya rekatnya) tinggi, kemampuan gelasi, solubility (kemampuan melarut) lebih baik daripada tepung tapioka, tepung galek[6]. Mocaf adalah produk baru yang terus berkembang dengan menggunakan teknik penggilingan yang menghasilkan kandungan serat kasar yang tinggi hingga mencapai 12% sebanding dengan serat dari tepung gandum utuh (*whole grain-wheat flour*). Tepung mocaf memiliki karakteristik berwarna putih, lembut dan tidak berbau khas singkong. Tepung mocaf banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dari berbagai jenis makanan seperti kue, mie, cookies dan kue-kue basah[7]. Pemanfaatan tepung mocaf sebagai media alternatif untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* belum pernah dilakukan. Hal inilah yang mendasari perlunya dilakukan penelitian mengenai media alternatif dari tepung mocaf sebagai sumber nutrient baru pada bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*.

2. Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium yang dilaksanakan di laboratorium bakteriologi Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Sidoarjo pada bulan Februari sampai Maret 2022. Percobaan dilakukan menggunakan 7 perlakuan dengan replikasi pada penelitian ini sebanyak 4 kali.

Perlakuan 1 : media mocaf 1 gram + 1,5 gram agar-agar + 0,5 gram NaCl + 0,5 gram glukosa + 100 mL akuades.

Perlakuan 2 : media mocaf 2 gram + 1,5 gram agar-agar + 0,5 gram NaCl + 0,5 gram glukosa + 100 mL akuades.

Perlakuan 3 : media mocaf 4 gram + 1,5 gram agar-agar + 0,5 gram NaCl + 0,5 gram glukosa + 100 mL akuades.

Perlakuan 4 : media mocaf 6 gram + 1,5 gram agar-agar + 0,5 gram NaCl + 0,5 gram glukosa + 100 mL akuades.

Perlakuan 5 : media mocaf 8 gram + 1,5 gram agar-agar + 0,5 gram NaCl + 0,5 gram glukosa + 100 mL akuades.

Perlakuan 6 : media nutrien agar instan

Perlakuan 7 : bacteriological agar.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain tepung mocaf sebanyak 1 gram, 2 gram, 4 gram, 6 gram, 8 gram, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, media Nutrient agar (kontrol positif), bacteriological agar (kontrol negatif), aquades.

Alat

Alat yang digunakan meliputi petridisk, tabung reaksi, bunsen, kaki tiga, kasa, erlenmeyer, sprayer, spatula, batang pengaduk, timbangan digital, autoclave, beker, gelas ukur, mikropipet, inkubator, colony counter dan alat tulis.

Pembuatan Media Tepung Mocaf

Menimbang tepung mocaf masing-masing sebanyak 1 gram, 2 gram, 4 gram, 6 gram, 8 gram kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades dalam erlenmeyer dengan menambahkan 1,5 gram bacterial agar dan 0,5 gram glukosa. Panaskan hingga larut dan atur pH $7,4 \pm 2$ pada suhu 25°C selanjutnya disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian dituang dalam petridisk dan dinginkan pada suhu kamar hingga memadat.

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Menimbang sebanyak 1, 36 gram media NA kemudian dilarutkan 68 mL akuades dalam erlenmeyer. Media dipanaskan hingga benar-benar larut selanjutnya diukur pH $7,4 \pm 0,2$ menggunakan kertas pH kemudian di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C , setelahnya dituang di cawan petri dan biarkan memadat pada suhu ruang.

Pengenceran Bakteri

Bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya diencerkan sebanyak 10^{-5} dan diinokulasikan pada media perlakuan dengan metode *spread plate* kemudian diinkuasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi dihitung total jumlah bakteri dengan metode TPC (*Total Plate Count*).

Teknik Analisa Data

Data yang dikumpulkan adalah data primer yaitu hasil perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media mocaf menggunakan *Colony counter*. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA).

3. Hasil Penelitian

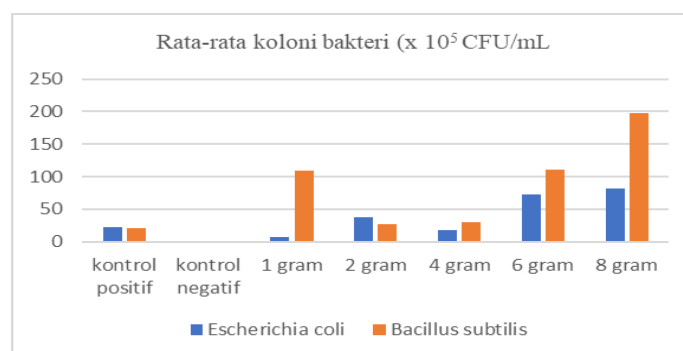
Berdasarkan hasil penelitian pada media pertumbuhan alternatif dari tepung mocaf (*modified cassava flour*) didapatkan hasil tumbuhnya koloni bakteri didapatkan hasil *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* seperti pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Rata-rata Hasil Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* Pada Tepung Mocaf

Konsentrasi Media	<i>Escherichia coli</i> (CFU/mL)	<i>Bacillus cereus</i> (CFU/mL)
Kontrol positif	$22,5 \times 10^5$	$20,25 \times 10^5$
Kontrol negatif	0	0
1 gram	$7,25 \times 10^5$	$108,75 \times 10^5$
2 gram	38×10^5	27×10^5
4 gram	17×10^5	$30,25 \times 10^5$
6 gram	$72,25 \times 10^5$	111×10^5
8 gram	81×10^5	$197,75 \times 10^5$

Nilai rata-rata dari tiap perlakuan dengan konsentrasi media yang berbeda-beda (**Gambar 1**) menunjukkan bahwa tiap-tiap konsentrasi media memiliki jumlah koloni yang berbeda-beda. Kontrol positif dari bakteri *Escherichia coli* memiliki nilai rata-rata jumlah koloni sebesar $22,5 \times 10^5$ CFU/mL sedangkan kontrol positif dari bakteri *Bacillus cereus* memiliki nilai rata-rata jumlah koloni sebesar $20,25 \times 10^5$ CFU/mL. Nilai tertinggi dari variasi konsentrasi media alternatif menggunakan tepung mocaf (*modified cassava flour*) sebanyak 8 gram dengan rata-rata jumlah koloni 81×10^5 CFU/mL pada bakteri

Escherichia coli sedangkan pada bakteri *Bacillus cereus* nilai rata-rata jumlah koloni tertinggi sebesar $197,75 \times 10^5$ CFU/mL menggunakan tepung mocaf (*modified cassava flour*) sebanyak 8 gram. Sedangkan untuk nilai rata-rata jumlah koloni terendah dari bakteri *Escherichia coli* pada massa tepung mocaf 1 gram sebesar $7,25 \times 10^5$ CFU/mL, untuk bakteri *Bacillus cereus* nilai rata-rata jumlah koloni terendah pada massa tepung mocaf 2 gram sebesar 27×10^5 CFU/mL.



Gambar 1. Grafik rata-rata pertumbuhan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* Pada Tepung Mocaf

Berdasarkan uji ANOVA tiap-tiap perlakuan memiliki nilai signifikan $>0,05$ yang artinya tidak ada perbedaan signifikan antara kontrol positif (media NA) dengan media alternatif tepung mocaf

4. Pembahasan

Perbedaan jumlah koloni yang tumbuh antara bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* pada masing-masing perlakuan dipengaruhi oleh faktor fisik dan faktor kimia. Faktor fisik meliputi temperatur, pH, tekanan osmotik, cahaya. Faktor kimia meliputi oksigen, hidrogen, karbon, sumber mineral seperti K, Mg, Fe, Co, Cu, Zn, sumber vitamin dan gas. Jumlah koloni pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* menunjukkan hasil yang berbeda hal ini disebabkan perbedaan struktur dinding sel antara bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang dinding selnya tersusun atas lapisan tipis peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat sehingga rentan terhadap ancaman fisik seperti antibiotik atau bahan antibakteri. Bakteri *Bacillus cereus* merupakan bakteri Gram positif yang dinding selnya tersusun atas lapisan tebal peptidoglikan dan mengandung asam teikoat. hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pada jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* terbanyak sebesar 230 CFU/mL dibandingkan dengan jumlah koloni dari bakteri *Escherichia coli* sekitar 170 CFU/mL pada formula A [8].

Media *nutrient agar* (NA) merupakan media umum yang digunakan untuk budidaya bakteri dengan kandungan nutrisi yang tinggi terdiri dari ekstrak daging, ekstrak ragi, protein sederhana yang sangat dibutuhkan bakteri untuk tumbuh dan berkembang [9]. Ekstrak daging sapi berfungsi sebagai sumber karbon, nitrogen, oksigen, mineral, vitamin. Pepton pada media NA berfungsi sebagai protein merupakan sumber karbon, nitrogen, oksigen, sulfida. Pada penelitian yang telah dilakukan pertumbuhan bakteri pada media NA lebih cepat daripada pertumbuhan bakteri pada tepung mocaf hal ini disebabkan media NA merupakan media yang sudah teruji secara klinis untuk pertumbuhan bakteri sehingga proses metabolismenya berlangsung lebih optimal.

Tepung mocaf merupakan produk berbahan dasar singkong yang pengolahannya menggunakan prinsip fermentasi oleh bakteri asam laktat yang berkalori tinggi karena memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi (87,3%) dan Sebagian besar penyusunnya adalah polisakarida [10]. Polisakarida merupakan bentuk karbohidrat kompleks yang berperan dalam proses pengentalan, penstabil dan pembentuk gel [11]. kandungan yang kompleks dalam media pertumbuhan bakteri menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme membutuhkan waktu yang lebih lama untuk menguraikan komponen-komponen menjadi lebih sederhana sehingga mudah diserap sel dan digunakan untuk sintesa sel dan energi [12]. Bila kandungan dan elemen-elemen nutrisi tercukupi pertumbuhan bakteri relatif cepat dan sebaliknya bila nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri kurang atau tidak melimpah maka sel-sel akan beradaptasi dengan lingkungan serta membutuhkan waktu yang lebih lama untuk pembentukan enzim-enzim dapat menguraikan substrat [13]. Penambahan agar pada media alternatif ini berfungsi sebagai pematat untuk kultur dan glukosa sebagai sumber karbon. Bakteri fermentasi dari tepung mocaf menghasilkan enzim pektinolitik dan selulolitik yang dapat menghancurkan dinding sel singkong sehingga terjadi liberasi granula pati. Selain itu mikroba tersebut juga menghasilkan enzim yang menghidrolisis pati menjadi gula dan metabolismenya menjadi asam organik terutama asam laktat, hal ini menyebabkan perubahan karakteristik dari tepung

mocaf yaitu viskositasnya lebih tinggi, kemampuan menyerap air lebih baik. Berdasarkan Gambar 1. pada bakteri *Bacillus cereus* jumlah koloni yang tumbuh pada berbagai variasi konsentrasi tepung mocaf lebih banyak dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli*, hal ini disebabkan bakteri tumbuh pada media yang baru yaitu tepung mocaf, sehingga bakteri mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan hidup dengan kondisi lingkungan dan media pertumbuhan yang baru. Bila media dan lingkungan pertumbuhan sebelumnya sama dengan media dan lingkungan pertumbuhan yang baru maka tidak diperlukan waktu adaptasi yang lama sehingga pertumbuhan koloni akan cepat, akan tetapi bila media dan kondisi pertumbuhan yang sekarang berbeda dengan media dan kondisi pertumbuhan sebelumnya maka diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesa enzim-enzim. Selain itu kandungan nutrisi yang ada pada media juga mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Bila media kaya akan kandungan nutrisi maka koloni bakteri akan tumbuh lebih banyak dibandingkan bila media yang memiliki kandungan nutrisi yang terbatas [14].

5. Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan analisis data dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa tepung mocaf dapat dijadikan media alternatif untuk pertumbuhan bakteri. saran dari penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan yang terdapat pada tepung mocaf seperti karbohidrat, protein, asam amino serta unsur-unsur mikronya.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yang telah memberikan dukungan dana pada program Hibah Internal Institusi, kritik dan saran sehingga penelitian ini dapat terlaksana dan terselesaikan.

Referensi

- [1] Adesemoye AO and Adedire CO. Use of Cereals as basal medium for the formulation of alternative culture media for fungi. *J Microbiol & Biotec.* 2005; 21: 329-336.
- [2] Dabai YU, Muhammad S. Cassava Starch As An Alternative To Agar-agar In microbiological Media. 2005; *African Journal Of Biotechnology.* 4 (6): 573-574
- [3] Jadhafn P, Sonne M, Kadam A, Patil S, Dahigaonkar K, Oberoi JK. Formulation Of Cost Effective Alternative Bacterial Culture Media Using Fruit And Vegetable Waste. *International Journal Of Current Research And Review.* 2018;10 (2): 6-15
- [4] Anisah dan Rahayu Triastuti. Media Alternatif Untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat Yang Berbeda. 2015. Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS
- [5] Bhattacharya S, Vijayalakshmi N, Parija S C. Uncultivable bacteria : Implications and recent trends towards identification. *Indian J Med Microbiol.* 2002;20:174-7
- [6] Wa ode N, Darmawati E, Mardjan SS, Khumaida N. Komposisi Fisikokimia Tepung Ubi Kayu dan Mocaf dari Tiga Genotipe Ubi Kayu Hasil Pemuliaan. *Jurnal Keteknikan Pertanian.* 2020;8 (3): 97-104. DOI: 10.19028/jtep.08.3.97-104
- [7] Subagio A, Windrati WS, Witono Y, dan Fahmi F. Produksi Operasi Standar (POS): Produksi Mocal Berbasis Klaster [Skripsi]. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember, Jember; 2008.
- [8] Deivanayaki M, Iruthayaraj. Alternative Vegetable Nutrient Source For Microbial Growth. *International Journal of Bioscience.* 2012; 2(5):47-51
- [9] Radji M., and Bomed M. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2010
- [10] Montagnac JA, Davis CR, Tanumihardjo SA. Nutritional Value Of Cassava For Use As A Staple Food And Recent Advances For Improvement. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2009; 8(3): 181-194
- [11] Kusnandar F. Kimia Pangan: Komponen Makro. Jakarta: Dian Rakyat; 2010
- [12] Gandjar, I. Mikologi Dasar dan Terapan. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia; 2006
- [13] Madigan, MT, David PCI, David S, Jhon M, Martinko. 2011. *Brock Micribiology of Microorganism.* San Fransisco: Benjamin Cummings publishing; 2011
- [14] Wulandari, Kurniati I, Dermawan A, Nurhayati D. Pemanfaatan Tepung Sayuran Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekes Depkes Bandung.* 2019;11(1): 285-291