

PEMANFAATAN TEPUNG KACANG TUNGGAK SEBAGAI MEDIA ALTERNATIF TRYPTICASE SOY AGAR UNTUK PERTUMBUHAN *Escherichia coli*

*Cowpea Flour Utilization As An Alternative Media Of Trypticase Soy Agar
For Escherichia coli Growth*

Fatimah Nur Salsabila^{1*)}, Asep Dermawan², Iis Kurniati³, Asep lin⁴
^{1,2,3,4} Poltekkes Kemenkes Bandung, Teknologi Laboratorium Medis,
Email: fnsbila619@gmail.com

ABSTRACT

The use of culture media in the laboratory can be used to propagate bacteria and to support diagnosis of a disease caused by bacteria. The high cost of imported media, Therefore, innovations can be made to reduce media prices by utilizing local natural resources. Cowpea has advantage of containing high protein and has a relatively affordable price. This study aims to determine the cowpea flour can be used as an alternative media TSA for *E.coli* growth and determine the optimum concentration and pH of alternative media. The type of research conducted was quasy experimental with Static Group Comparison design. The experimental group used cowpea flour with variations concentration of 6%, 8% and 10% and variations media pH 6, 7 and 8. The control group used TSA media. The data obtained were subjected to statistical testing using ANOVA, resulting in ($p < 0.05$) at concentrations of 6% and 10%, indicating a significant difference compared to the control. However, at a concentration of 8%, a sig. value of 0.102 ($p > 0.05$) was obtained, indicating no significant difference compared to the control. At pH 6 and pH 8, the results were ($p < 0.05$), while at pH 7, a sig. value of 0.320 ($p > 0.05$) was obtained, indicating no significant difference compared to the control. From the research findings, it can be concluded that cowpea flour can be used as an alternative medium for *E. coli* growth with an optimum concentration of 8% and the optimum media pH is 7.

Keywords: Alternative Media, Cowpea Flour, *E.coli*

ABSTRAK

Penggunaan media kultur di laboratorium dapat digunakan untuk perbanyak bakteri dan untuk menunjang diagnosis suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Mahalnya media yang diimpor, maka dapat dilakukan inovasi untuk mengurangi harga media dengan pemanfaatan sumber daya alam lokal. Kacang tunggak mempunyai keunggulan mengandung protein yang cukup tinggi dan memiliki harga yang cukup terjangkau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tepung kacang tunggak dapat digunakan sebagai media alternatif TSA untuk pertumbuhkan *E.coli* serta menentukan konsentrasi dan pH optimum media alternatif. Jenis penelitian yang dilakukan adalah quasy eksperimental dengan desain Static Group Comparison. Kelompok eksperimen menggunakan tepung kacang tunggak dengan variasi konsentrasi 6%, 8% dan 10% serta variasi pH media 6, 7 dan 8. Kelompok kontrol menggunakan media TSA. Data yang diperoleh dilakukan pengujian statistik dengan uji ANOVA, diperoleh hasil ($p < 0.05$) pada konsentrasi 6% dan 10% yang menunjukkan ada perbedaan yang signifikan dengan kontrol, sedangkan pada konsentrasi 8% diperoleh nilai sig. 0.102 ($p > 0.05$) menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dengan kontrol. pada pH 6 dan pH 8 diperoleh hasil ($p < 0.05$) menunjukkan ada perbedaan signifikan dengan kontrol,

sedangkan pada pH 7 diperoleh nilai sig. 0.320 ($p > 0.05$) menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dengan kontrol. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa tepung kacang tunggak dapat digunakan sebagai media alternatif TSA untuk pertumbuhan *E.coli* dengan konsentrasi optimum 8% dan pH optimum media adalah 7.

Kata kunci: *E.coli*, Media Alternatif, Tepung Kacang Tunggak

PENDAHULUAN

Bakteri memerlukan suatu media sebagai tempat pertumbuhannya. Dalam menumbuhkan bakteri dibutuhkan nutrisi, *Potential of Hydrogen* (pH), tekanan osmotik, kadar oksigen dan suhu yang sesuai.¹ Media pertumbuhan digunakan untuk keperluan laboratorium seperti isolasi yang menunjang diagnosis suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Pada laboratorium pendidikan digunakan untuk memperbanyak bakteri sebagai stok untuk keperluan akademis. Di laboratorium mikrobiologi, salah satu penggunaan media umum untuk bakteri yang sering digunakan adalah *Trypticase Soy Agar* (TSA). Harga media TSA yang diimpor mencapai ± Rp 1.500.000 untuk setiap 500 g.² Mahalnya media TSA, maka dapat dilakukan beberapa inovasi yang dapat mengurangi biaya pembuatan media pertumbuhan bakteri. Pemanfaatan sumber daya alam yang mengandung nutrisi seperti protein dan karbohidrat dapat digunakan sebagai salah satu inovasi untuk media alternatif pertumbuhan bakteri dengan harga yang terjangkau.³

Media alternatif dari kacang-kacangan telah berhasil dibuat oleh beberapa peneliti, seperti pemanfaatan kacang edamame⁴ dan kacang koro⁵. Di Indonesia kacang tunggak adalah salah satu kacang-kacangan yang belum dimaksimalkan pemanfaatannya. Kacang tunggak mempunyai keunggulan mengandung protein yang cukup tinggi, mudah dibudidayakan, umur panen lebih cepat dibanding kacang kedelai dan kacang hijau, serta harga yang relatif terjangkau.⁶

Tepung kacang tunggak memiliki kandungan kadar protein 26,42%; kadar karbohidrat 63,04%; kadar lemak 1,44%; kadar air 4,96%; kadar serat kasar 6,46%; kadar abu 4,13%. Kandungan gizi dalam tepung kacang tunggak dapat digunakan sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri pada media alternatif.⁷

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Arulanantham dkk (2012) yaitu konsentrasi 3% dapat menumbuhkan *E.coli* dengan hasil pertumbuhan lebih sedikit dibandingkan pertumbuhan pada media *Nutrien Agar* (kontrol).⁸

Konsentrasi optimum menggunakan kacang tunggak sebagai media alternatif TSA belum ditemukan. Sedangkan untuk *E. coli* belum ditemukan pH optimum pada media alternatif untuk pertumbuhannya. pH rendah atau pH tinggi dapat menyebabkan menurunnya jumlah pertumbuhan bakteri. Pada penelitian yang dilakukan Annissatussholeh dan Arivo yaitu *E. coli* pada rentang pH 5-9 dapat tumbuh dan pada pH 7 tumbuh optimum.⁹

Berdasarkan uraian tersebut, penulis tertarik melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui apakah tepung kacang tunggak dapat digunakan sebagai media alternatif TSA dengan variasi konsentrasi tepung kacang tunggak dan variasi pH media optimum untuk pertumbuhan *E.coli*.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan yaitu *quasy eksperimental*, dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Kimia Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Politeknik

Kesehatan Bandung. Desain penelitian yang digunakan yaitu *Static Group Comparison* dengan menyeleksi dua kelompok (kelompok eksperimen dan kontrol). Kelompok eksperimen menerima perlakuan yakni *E.coli* ditanamkan pada media alternatif tepung kacang tunggak dengan variasi konsentrasi 6%, 8% dan 10% serta variasi pH media 6, 7 dan 8. Hasil pengamatan dibandingkan dengan kelompok kontrol yakni *E.coli* ditanamkan pada media *TSA*.

Populasi yang digunakan yaitu kacang tunggak yang diperoleh dari platform *e-commerce* yang terletak di Kabupaten Bekasi dan dilakukan determinasi di Hebatorium Jantinangor Jurusan Biologi FMIPA UNPAD menyatakan hasil identifikasi tumbuhan yang digunakan dalam penelitian dengan nomor surat No.26/HB/05/2023 adalah benar kacang tunggak dengan nama latin *Vigna unguiculata L. Walp.* Sampel yang digunakan pada penelitian ini berupa tepung kacang tunggak. Penepungan dipilih karena penanganan dalam pengolahan maupun penyimpanan lebih mudah dan bahan pangan berbentuk tepung dapat disimpan dalam jangka waktu cukup lama. Bakteri yang diujikan adalah *E.coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FKUI. Penelitian yang dilakukan telah mendapatkan keterangan layak etik dengan nomor surat No.32/KEPK/EC/VI/2023.

Data primer yang diperoleh pada penelitian ini yaitu dari perhitungan jumlah koloni *E. coli* yang tumbuh pada media alternatif dengan berbagai variasi konsentrasi dan variasi pH media, selanjutnya dibandingkan dengan media *TSA* sebagai kontrol.

Data primer diolah secara statistik menggunakan uji *Two Way Anova* yang digunakan untuk menguji pengaruh dua variable atau lebih dengan data yang bersifat nominal. Dalam penelitian ini *Two Way Anova* digunakan untuk melihat pengaruh konsentrasi tepung kacang tunggak dan pH media terhadap pertumbuhan *E.coli*.

HASIL

1. Uji penegasan *E.coli*

Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat preparat dari strain murni *E.coli*, kemudian diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 100x. Dilakukan isolasi strain murni *E.coli* pada media *MCA* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam serta dilakukan uji *IMVIC* isolasi strain murni *E.coli* pada media *IMVIC* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C selanjutnya dilakukan uji pada media indol dengan menambahkan 1-3 tetes reagen *Kovacs*, menambahkan 1-2 tetes reagen *methyl red* pada media media *methyl red* serta menambahkan reagen α naftol dan KOH 40% pada media *Voges-Proskauer*.

Tabel 1 Hasil Uji Penegasan *E.coli*

Nama Uji	Hasil	Keterangan
Pewarnaan Gram		Basil, Gram Negatif
<i>Mac Conkey Agar</i>		Koloni bulat, 1-2 mm, merah muda, elevasi cembung.
Indol		Positif (Terbentuk cincin merah pada permukaan media)
<i>Methyl Red</i>		Positif (Warna merah pada media)
<i>Voges Proskauer</i>		Negatif (Tidak terjadi perubahan warna)

Lanjutan Tabel 2 Hasil Uji Penegasan
E.coli



Berdasarkan tabel 1 menunjukkan hasil uji penegasan yang dilakukan pada bakteri untuk penelitian ini adalah benar *E.coli*.

2. Data Hasil Penelitian

Suspensi *E.coli* yang akan digunakan disetarakan dengan larutan 0,5 Mc.Farland lalu diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm dan diperoleh nilai absorbansi 0,09. Kemudian dilakukan penanaman dari suspensi bakteri pengenceran 10^{-6} pada media alternatif tepung kacang tunggak dan media TSA menggunakan teknik *pour plate*. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam lalu dihitung jumlah koloni yang tumbuh menggunakan *colony counter* dan diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 2 Data Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *E.coli* Pada Media Alternatif dan Media Kontrol TSA

Variasi Konsentrasi	Pengulangan	Jumlah Koloni (CFU/mL)			
		6	Variasi pH 7	8	TSA (Kontrol)
6%	1	138×10^6	151×10^6	122×10^6	184×10^6
	2	142×10^6	167×10^6	130×10^6	192×10^6
	3	125×10^6	151×10^6	118×10^6	176×10^6
	Rata-rata	135×10^6	156×10^6	123×10^6	184×10^6
8%	1	170×10^6	184×10^6	150×10^6	184×10^6
	2	176×10^6	200×10^6	158×10^6	192×10^6
	3	168×10^6	180×10^6	147×10^6	176×10^6
	Rata-rata	171×10^6	188×10^6	152×10^6	184×10^6
10%	1	201×10^6	232×10^6	177×10^6	184×10^6
	2	201×10^6	249×10^6	190×10^6	192×10^6
	3	188×10^6	231×10^6	168×10^6	176×10^6
	Rata-rata	197×10^6	237×10^6	178×10^6	184×10^6
Rata-rata	168×10^6	194×10^6	151×10^6	184×10^6	

Berdasarkan tabel menunjukkan bahwa *E.coli* dapat tumbuh pada semua variasi konsentrasi dan variasi pH media alternatif tepung kacang tunggak. Hasil pengamatan diperoleh jumlah rata-rata koloni *E.coli* pada media dengan konsentrasi 6% pH 6, pH 7, dan pH 8 berturut-turut yaitu 135×10^6 CFU/mL, 156×10^6 CFU/mL dan 123×10^6 CFU/mL. Pada media dengan konsentrasi 8% pH 6, pH 7, dan pH 8 berturut-turut yaitu 171×10^6 CFU/mL, 188×10^6 CFU/mL, dan 152×10^6 CFU/mL. Pada media dengan konsentrasi 10% pH 6, pH 7, dan pH 8 berturut-turut yaitu 197×10^6 CFU/mL,

237×10^6 CFU/mL, dan 178×10^6 CFU/mL dan pada media TSA (kontrol) yaitu 184×10^6 CFU/mL.

3. Pengolahan Data Secara Statistik

Data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan uji *Two Way Anova* yang merupakan uji untuk membandingkan perbedaan rata-rata kelompok yang terbagi dalam 2 variabel bebas.

Tabel 3 Hasil Uji Anova

Sumber	FHitung	Sig.
pH	137,931	,000
Konsentrasi	59,117	,000

Berdasarkan uji ANOVA diperoleh nilai signifikansi (sig.) pada variabel konsentrasi dan variable sebesar 0.000 ($p < 0.05$) sehingga hipotesis konsentrasi dan pH media berpengaruh terhadap pertumbuhan/jumlah koloni dapat diterima.

Nilai signifikan pada variabel pH sebesar 0.000 ($p < 0.05$) sehingga pH media berpengaruh terhadap pertumbuhan/jumlah koloni dapat diterima.

Tabel 4 Hasil Uji Post Hoc Variabel Konsentrasi

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Perbedaan Rata-rata (I-J)	Sig.
Kontrol	6%	45.7778*	.000
	8%	13.6667	.102
	10%	-20.1111*	.009

Berdasarkan tabel 4, pada konsentrasi 6% dan 10% diperoleh hasil ($p < 0.05$) yang menunjukkan ada perbedaan yang signifikan dengan kontrol sedangkan pada konsentrasi 8% diperoleh nilai sig. 0.102 ($p > 0.05$) menunjukkan tidak ada perbedaan jumlah koloni yang signifikan dengan kontrol. Maka, dapat diartikan konsentrasi optimum tepung kacang tunggak untuk menumbuhkan *E.coli* yaitu 8%.

Tabel 5 Hasil Uji Post Hoc Variabel pH

(I) pH	(J) pH	Perbedaan Rata-rata	Sig.
Kontrol	6	16.3333*	.040
	7	-9.8889	.320
	8	32.8889*	.000

Berdasarkan tabel 5, pada pH 6 dan pH 8 diperoleh hasil ($p < 0.05$) menunjukkan ada perbedaan signifikan dengan kontrol. Sedangkan pada pH 7 diperoleh nilai sig. 0.320 ($p > 0.05$) menunjukkan tidak ada perbedaan jumlah koloni yang signifikan dengan kontrol. Maka, dapat diartikan pH optimum media untuk menumbuhkan *E.coli* yaitu 7.

PEMBAHASAN

Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan cara pewarnaan Gram. *E.coli* menunjukkan hasil Gram negatif berbentuk basil. Hal ini disebabkan *E.coli* memiliki peptidoglikan tipis dan lapisan lipid tebal pada dinding sel, ketika ditambahkan kristal violet maka menyerap zat warna namun pada saat diberi alkohol, lemak pada bakteri Gram negatif akan luntur dan warna kristal violet pun luntur, karena tidak terwarnai maka bakteri akan menyerap warna safranin yaitu merah.¹⁰

Selanjutnya identifikasi secara makroskopis dilakukan pada media MCA. Bakteri yang tumbuh pada media MCA hanya bakteri Gram negatif saja karena bakteri Gram positif dihambat pertumbuhannya oleh garam empedu dan kristal violet. Koloni *E.coli*, berbentuk bulat, permukaan cembung dan berwarna merah muda berwarna merah muda bersifat laktosa fermented yang dideteksi dengan merah netral sebagai indikator pH pada media MCA. Laktosa ketika difermentasi akan memproduksi asam dan menurunkan nilai pH media yang akan berubah menjadi warna merah muda.¹¹

Uji biokimia media IMVIC diperoleh hasil indol positif ditandai pada permukaan media terbentuk cincin warna merah setelah ditambah dengan reagen Kovacs hal ini menunjukkan *E.coli* mampu memecah asam amino triptofan, asam triptofan merupakan asam amino esensial yang dapat didegradasi dengan menghasilkan produk berupa indol. Media *Methyl red* diperoleh hasil positif ditandai pada media terjadi perubahan warna merah setelah ditambahkan reagen *Methyl red* yang menunjukkan bakteri mampu memfermentasi asam. Media *Voges Proskauer* diperoleh hasil negatif ditandai pada media tidak berubah warna menjadi merah ketika ditambahkan reagen α naftol dan KOH

40% karena hasil fermentasi glukosa oleh *E.coli* berupa produk asam bukan produk netral. Media *Simmon's Citrate* diperoleh hasil negatif ditandai pada media tidak berubah warna menjadi biru yang menunjukkan bahwa *E.coli* tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya.¹²

Suspensi *E.coli* yang digunakan untuk inokulasi pada media, disetarakan dengan larutan Mc.Farland 0,5 kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm, pengukuran pada suspensi bertujuan untuk mengukur kekeruhan yang lebih akurat. Hasil pengukuran suspensi *E.coli* pada penelitian ini diperoleh nilai absorban 0,09. Pembuatan suspensi *E.coli* disesuaikan sehingga memperoleh nilai absorban 0,08-0,1 yang sama dengan larutan standar Mc.Farland 0,5. Nilai absorban 0,08-0,1 ekuivalen dengan jumlah bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.¹³

Penentuan konsentrasi media alternatif tepung kacang tunggak sebagai media alternatif *TSA* dihitung berdasarkan analisis kandungan kimia tepung kacang tunggak yang diperoleh pada penelitian sebelumnya dan disesuaikan dengan kandungan pepton pada media *TSA*. Berdasarkan hasil yang diperoleh, *E.coli* tumbuh di semua variasi konsentrasi media alternatif tepung kacang tunggak, hal ini disebabkan kandungan nutrisi yang dibutuhkan oleh *E.coli* tercukupi. Pada saat kandungan nutrisi tercukupi, proses metabolisme pada bakteri akan berlangsung dan terjadi proses pembelahan sel.¹⁴ Penelitian ini selajen dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Arulanantham dkk., (2012) yaitu *E.coli* dapat tumbuh pada media alternatif kacang tunggak.⁸

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pada konsentrasi 8% jumlah koloni tidak terdapat perbedaan signifikan ($P > 0.05$) dengan kontrol *TSA*, sehingga konsentrasi optimum tepung kacang konsentrasi optimum tepung kacang tunggak untuk menumbuhkan

E.coli yaitu 8% dengan jumlah rata-rata koloni mendekati/setara dengan kontrol yaitu 170×10^6 CFU/mL dan kontrol 184×10^6 CFU/mL. Kadar protein pada konsentrasi 8% sesuai dengan kandungan pepton pada *TSA*. Protein pada pertumbuhan bakteri berguna dalam proses pembentukan sel bakteri.¹⁵ Pada penelitian ini hasil yang diperoleh berbeda jika dibandingkan dengan hasil penelitian Arulanantham dkk., (2012) yaitu pada penelitian tersebut media alternatif kacang tunggak dengan konsentrasi 3% diperoleh hasil pertumbuhan belum setara dengan kontrol media *Nutrien Agar*.⁸ Hal tersebut dapat disebabkan karena konsentrasi media, kandungan nutrisi dan varietas kacang tunggak yang digunakan berbeda.

Pembuatan media alternatif tepung kacang tunggak dilakukan pengukuran pH awal terlebih dahulu dan hasil media menunjukkan semua konsentrasi memiliki pH sekitar 6,5-7,3 kemudian pH media disesuaikan dengan penambahan HCl dan NaOH. Berdasarkan hasil yang diperoleh, *E.coli* tumbuh di semua variasi pH yaitu pada rentang pH 6-8. pH atau derajat keasaman berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri karena pada rentang pH tertentu enzim akan mengurai nutrisi sesuai aktivitasnya.¹⁶ Penelitian ini selajen dengan penelitian yang dilakukan oleh Sulistiyoningrum dkk.,(2013) yaitu *E.coli* dapat tumbuh pada pH 4,4–9.¹⁷

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pada pH 7 jumlah koloni tidak terdapat perbedaan signifikan ($P > 0.05$) dengan kontrol, sehingga dapat pH media optimum media tepung kacang untuk menumbuhkan *E.coli* yaitu pH 7 (netral) dengan jumlah rata-rata koloni mendekati/setara dengan kontrol yaitu 194×10^6 CFU/mL dan kontrol 184×10^6 CFU/mL. Pada pH 7 memiliki hasil pertumbuhan tertinggi dibandingkan pada pH 6 dan pH 8. Setiap bakteri memiliki masing-masing pH optimum

yang berbeda. pH rendah atau pH tinggi dapat mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim yang disebabkan karena terjadinya denaturasi. Sehingga pada saat proses aktivitas enzim menurun, maka jumlah pertumbuhan bakteri juga menurun.⁹ Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Annissatussholeh dan Arivo (2017) yaitu *E. coli* pada pH 7 tumbuh optimum dengan diperoleh hasil nilai absorban tertinggi pada media nutrisi broth yang mendakan pada pH tersebut pertumbuhan *E. coli* banyak serta sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Evanuarini dkk., (2017) menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi NaOH dapat menyebabkan menurunnya kadar protein karena pada beberapa jenis protein dapat terdenaturasi sifat basa dari penambahan NaOH.¹⁸

Terdapat perbedaan jumlah koloni *E. coli* pada setiap pengulangan baik pada media alternatif dan media kontrol, hal ini disebabkan karena pada saat homogenisasi suspensi kurang homogen, sehingga jumlah yang diperoleh berbeda pada setiap pengulangan.¹⁹

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh tepung kacang tunggak dapat dijadikan sebagai media alternatif TSA untuk pertumbuhan *E. coli* yang dapat digunakan di laboratorium klinik atau laboratorium pendidikan sebagai stok untuk keperluan akademis dari bahan lokal dan lebih murah dengan harga media alternatif tepung kacang tunggak yaitu Rp. 425 per cawan sedangkan harga media TSA yaitu Rp. 2.400 per cawan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa tepung kacang tunggak (*Vigna unguiculata L. Walp*) dapat digunakan sebagai media

alternatif TSA untuk pertumbuhan *E. coli*. Konsentrasi optimum tepung kacang tunggak sebagai media alternatif TSA untuk pertumbuhan *E. coli* adalah 8% dan pH optimum media tepung kacang sebagai media alternatif TSA untuk pertumbuhan *E. coli* adalah pH 7.

DAFTAR RUJUKAN

1. Bonnet M, Lagier JC, Raoult D, Khelaifia S. Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes New Infect.* 2020;34. doi:10.1016/j.nmni.2019.100622
2. Oxoid. Tryptone Soya Agar. Thermo Fisher Scientific Inc. Published 2022. <http://www.oxoid.com/>
3. Juriah S, Sari WP. Jurnal Analis Kesehatan Klinikal Sains. *Klin Sains.* 2018;6(1):24–29. <http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal/article/view/525/361>
4. Andayani N, Nurhayati D, Saing MD. Optimasilisasi Pertumbuhan Bakteri *E. Coli* dan *Bacillus Subtilis* pada Media Edamame Agar. *J Pengemb Potensi Lab.* 2022;1(1):45–53. doi:10.25047/plp.v1i1.3095
5. Listyani IL, Hayati DN, Amanah RN, Iswara A. Koro Benguk (*Mucuna pruriens*) Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri Pengganti Nutrient Agar. *Proceeding of The URECOL.* Published online 2019:91–94. repository.urecol.org
6. Trustinah T, Kasno A, Mejaya MJ. Keragaman Sumber Daya Genetik Kacang Tunggak. *J Penelit Pertan Tanam Pangan.* 2017;1(2):165. doi:10.21082/jpptp.v1n2.2017.p165-172
7. Elvira N, Wisaniyasa NW, A NMIH. Studi Sifat Kimia, Fungsional, Dan Daya Cerna Protein. *Sci J Food Technol.* 2019;6(1):43–53.

8. Arulanantham R, Pathmanathan S, Ravimannan N, Niranjana K. Alternative culture media for bacterial growth using different formulation of protein sources. *J Nat Prod Plant Resour.* 2012;2(6):697–700.
<http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
9. Arivo D, Annissatussholeh N. Pengaruh Tekanan Osmotik pH, dan Suhu Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli. *J Ilmu Kedokt dan Kesehat.* 2017;4(3):153–160.
10. Suarjana IGKS, Besung INK, Mahatmi H, Tono KT. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri. *Modul Fak Kedokt Hewan Univ Udayana.* Published online 2017:6.
11. Widianingsih M, Jesus AM De. ISOLASI Escherichia coli DARI URINE PASIEN INFEKSI SALURAN KEMIH ISOLATION OF Escherichia coli FROM URINE OF PATIENTS OF URINARY TRACT INFECTION. *J Biol.* 2018;11(2):99–108.
doi:<http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v11i2.5899>
12. Kartikasari AM, Hamid IS, Purnama MTE, Damayanti R, Fikri F, Praja RN. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Escherichia coli Kontaminan Pada Daging Ayam Broiler Di Rumah Potong Ayam Kabupaten Lamongan. *J Med Vet.* 2019;2(1):66.
doi:10.20473/jmv.vol2.iss1.2019.66-71
13. Rosmania R, Yanti F. Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *J Penelit Sains.* 2020;22(2):76.
doi:10.56064/jps.v22i2.564
14. Patricia V, Hamtini, Yani A, Choirunnisa A, Ermala, Indriani. Potensi Pemanfaatan Jagung, Kacang Hijau dan Ubi Cilembu Sebagai Media Kultur Bakteri Escherichia Coli. *J Ilm Ilmu Kesehat.* 2022;10(3):460–468.
15. Riedel S, Morse AS, Mietzner T, Miller S. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology.* 28th Editi. McGraw-Hill Education; 2019.
<https://books.google.com/books?id=PumOCgAAQBAJ>
16. Azizah A, Suswati I, Agustin SM. Efek Anti Mikroba Ekstrak Bunga Cengkeh (Syzygium Aromaticum) Terhadap Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa) Secara in Vitro. *J Ilmu Kesehat Dan Kedokt Kel Saintika Med.* 2018;13(1):31.
doi:10.22219/sm.v13i1.5444
17. Sulistiyoningrum RS, Suprijanto J, Sabdono A. AKTIVITAS ANTI BAKTERI KITOSAN DARI CANGKANG KERANG SIMPING PADA KONDISI LINGKUNGAN YANG BERBEDA: KAJIAN PEMANFAATAN LIMBAH KERANG SIMPING (Amusium sp.). *J Mar Res.* 2013;2(Nomor 4):111–117. doi:10.1038/141548c0
18. Evanuarini H, Thohari I, Reliantari I. The Effect of NaOH Concentration on pH, Egg White Protein Content and Yolk Colour Pidan Egg. *J Ilmu dan Teknol Has Ternak.* 2017;12(2):69–75.
doi:10.21776/ub.jitek.2017.012.02.2
19. Rosidah U. Tepung ampas tahu sebagai media pertumbuhan bakteri serratia marcescens. *J Univ Muhammadiyah Semarang.* Published online 2016:1–63.