

LAMPIRAN**Lampiran 1. Surat Keterangan Hasil Laboratorium Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang**

Laboratorium Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran universitas Brawijaya
PAMKI CABANG MALANG
Jl.veteran Malang - 65145,Telp. (0341)5418266, 569117- ext.111

LAPORAN HASIL UJI**Report of Analysis**

No:038/IB/Lab.PAMKI/2010

KODE SAMPEL*Sample Code***NAMA/JENIS SAMPEL***Type of Sample***NAMA PELANGGAN***Customer***ALAMAT***Address***TANGGAL PENERIMAAN***Received Date***TANGGAL ANALISA***Date of Analysis***PARAMETER ANALISA***Analysis of Parameters***SPESIFIKASI METODE***Method Specification*

: 038/IB

: Isolat Bakteri/Padatan

: Sdr.(i) Uly

: Mahasiswa S1-Faperik Unibraw Malang

: 20/09/2010

: 22/09/2010

: Identifikasi Spesies Strain Bakteri

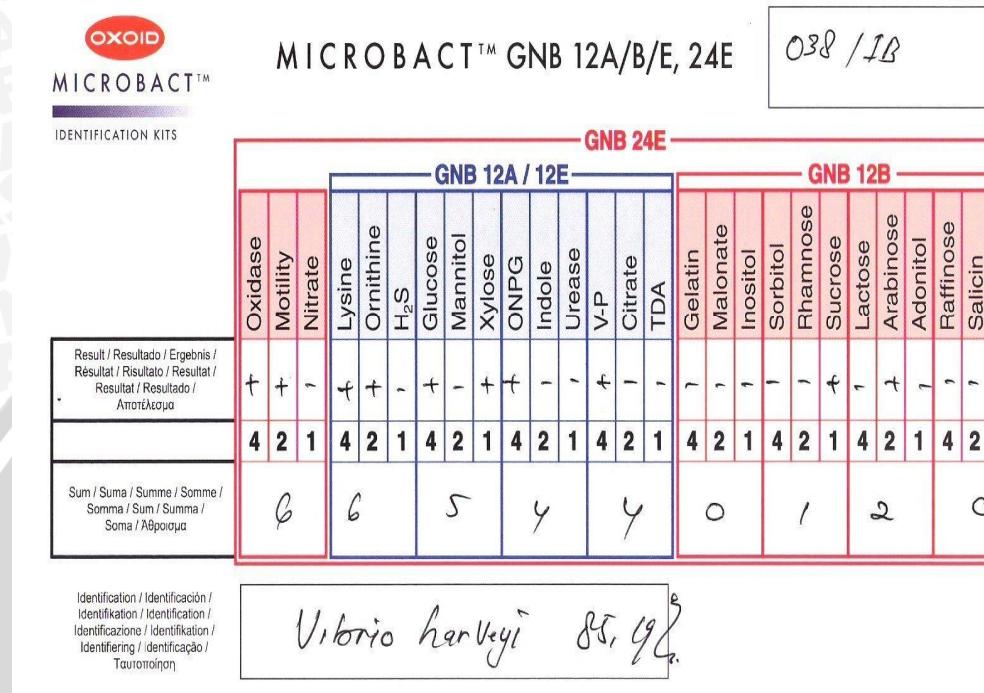
: Microbact System 24E

HASIL ANALISA*Test Result*

NO	KODE SAMPEL <i>Sample Code</i>	HASIL IDENTIFIKASI <i>Result Identification</i>
1.	38/IB	Vibrio harveyi

CATATAN*Note*: Hasil uji ini berlaku untuk sampel yang diuji
*These analytical result are only valid for the tested sample*Hasil Microbact System terlampir.
Result of Microbact System enclosed

Prof.Dr.dr.Sanarto Santoso,DTMH&H.SpMK

Lampiran 1. (Lanjutan)**➤ Cara Identifikasi Bakteri****1. Uji Oksidase**

Bertujuan untuk mengetahui kemampuan organisme dalam menghasilkan enzim oksidase. Bakteri yang menghasilkan enzim oksidase akan memperlihatkan reaksi positif dengan merubah kertas uji dari warna kuning menjadi warna biru tua atau ungu. Sedangkan bakteri yang tidak menghasilkan enzim oksidase akan memperlihatkan reaksi negatif dengan tidak adanya perubahan warna pada kertas uji.

Lampiran 1. (Lanjutan)

2. Uji Katalase

Bertujuan untuk mengetahui aktifitas enzim katalase dalam memecah H_2O_2 yang ditandai dengan adanya pembentukan gelembung gas. Bakteri yang menunjukkan reaksi katalase positif akan menghasilkan gelembung udara sedangkan bakteri yang menunjukkan reaksi negatif akan mati karena tidak terbentuknya katalase sehingga H_2O_2 meracuni bakteri tersebut.

3. Uji LIA (*Lysine Iron Agar*)

Uji LIA bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menguraikan lisin. Bila bakteri mampu menguraikan lisin, makawarna media akan berubah dari ungu menjadi kuning. Hal ini disebabkan karena pada fermentasi glukosa akan menurunkan pH media dan menyebabkan perubahan warna indikator pH dari ungu menjadi kuning.

4. Uji TSIA (*Triptic Soy Iron Agar*)

Uji TSIA dilakukan untuk mengtahui kemmapuan bakteri memecah glukosa, laktosa dan sukrosa. Selain itu untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan gas serta ada atau tidaknya H_2S . Jika pada hasil uji TSIA warna menjadi kuning maka bakteri membentuk asam, jika berwarna merah maka bakteri membentuk basa. Apabila pada tusukan terdapat rongga udara berarti bakteri menghasilkan gas dan jika pada media TSIA berwarna hitam, berarti terdapat H_2S .

5. Uji MIO (*Motility Indol Ornithine*)

Uji MIO dilakukan untuk mengetahui motilitas bakteri, kemampuan bakteri mengkarbosilakse ornithine menjadi amine dan kemampuan bakteri dalam memproduksi indol. Bakteri dikatakan motilitas positif jika pada tusukan terlihat adanya

Lampiran 1. (Lanjutan)

pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya pelebaran pada tusukan tersebut dan dikatakan negatif jika tidak ada pelbaran pada tusukan tersebut.

Bakteri telah ditetesi *Kovacks Indole Regen* ternyata timbul lapisan atau cincin merah pada permukaan media dikatakan sebagai indol positif apabila tidak timbul dikatakan sebagai indol negatif. Indol adalah zat yang dapat diperiksa adanya dengan penambahan *kovacks* yang mengakibatkan medium berwarna merah.

Uji ornithin dikatakan positif apabila timbul warna kuning disekitar tusukan, sebaliknya apabila tidak timbul warna kuning maka dikatakan ornithin negatif. Perubahan warna kuning di sekitar tusukan disebabkan karena bakteri mampu merubah asam amino 1-Ornithine menjadi putrescine yang mempunyai 2 gugus amina (NH_2) yang ditandai warna kuning.

6. Uji Gelatin.

Uji gelatin dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim proteolitik gelatinase. Pada hasil uji gelatin, apabila media mencair maka dikatakan sebagai gelatin positif dan apabila media padat maka gelatin dikatakan negatif.

7. Uji TCBSA

Media TCBSA merupakan media selektif yang dapat menghambat satu atau dua lebih bakteri tanpa menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Uji TCBSA bertujuan untuk mengetahui apakah biakan murni yang diperiksa tergolong vibrio atau bukan.

Lampiran 1. (Lanjutan)

8. Uji Gula

Uji gula dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan gula. Gula yang digunakan terdiri dari 6 jenis yaitu glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, inositol dan arabinosa. Pada uji gula apabila terjadi perubahan warna media dari warna merah menjadi warna kuning berarti gula tersebut terfermentasi atau positif, sedangkan jika media tidak berubah warna maka gula tersebut tidak terfermentasi atau negatif.

9. Uji MR (*Methyl Red*)

Uji MR (*Methyl Red*) digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan glukosa untuk menghasilkan asam. Bakteri bersifat MR positif jika pada permukaan media MR berwarna merah setelah diberi indikator MR. Bakteri bersifat MR negatif jika pada permukaan berwarna kuning setelah diberi indikator MR.

10. Uji VP (*Voges Preskaur*)

Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah dalam proses pertumbuhan organisme terbentuk asetilmeltilkarbinol sebagai produk antara dari proses metabolisme

karbohidrat. Pada uji VP, jika terbentuk warna kemerah-merahan pada permukaan media maka bakteri dikatakan VP positif, tetapi jika dipermukaan terdapat warna kuning seperti warna reagent maka bakteri dikatakan sebagai VP negatif.

11. Uji Urea

Uji urea bertujuan untuk mengetahui produksi enzim urease. Pada produksi urease dan hidrolisis urea menghasilkan amonia, menyebabkan pH naik

sehingga indikator *methyl red* medium akan merubah warna menjadi warna merah atau merah

Lampiran 1. (Lanjutan)

muda. Bakteri yang menunjukkan reaksi positif akan merubah warna media urea menjadi merah, dan apabila reaksinya negatif maka tidak akan merubah warna media.

12. Uji *Simmons Citrate* (SC)

Uji *Simmons Citrate* bertujuan untuk mendeterminasi kemampuan bakteri menggunakan asam sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon untuk proses metabolisme. Dalam medium ini digunakan natrium sitrat sebagai sumber karbon. Pada uji *simmons citrate*, jika bakteri yang ditanam pada media simmons citrate tumbuh dengan merubah warna media hijau menjadi biru maka dikatakan sebagai *simmons citrate* negatif.

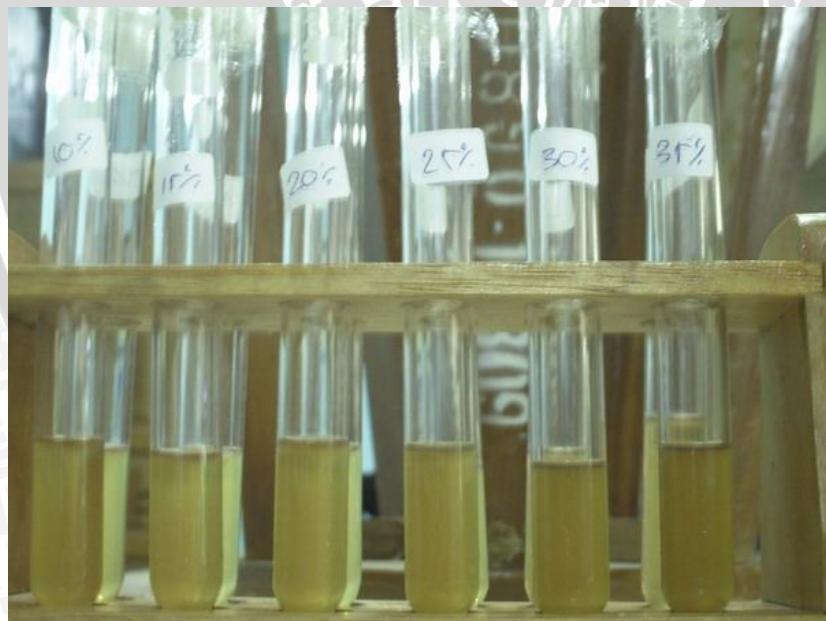
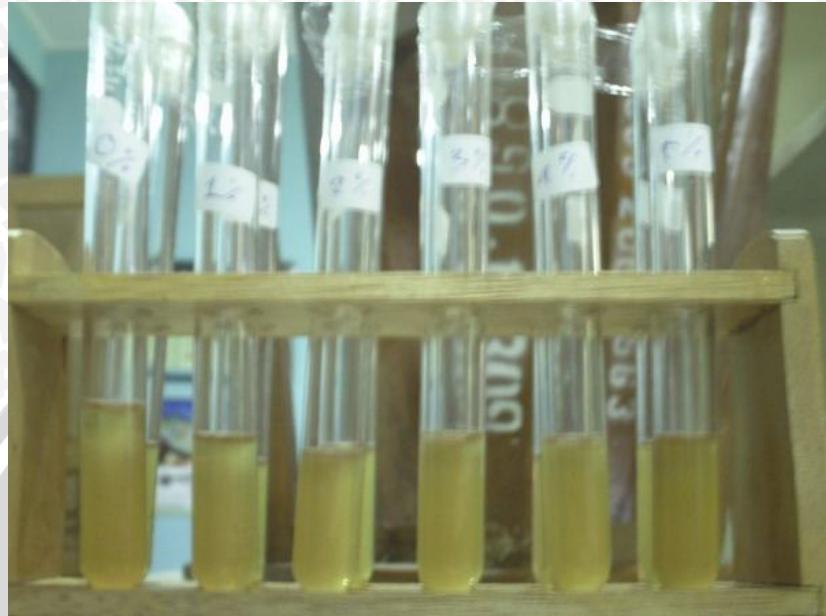
Lampiran 2. Komposisi TCBSA dan NB dari OXOID**Tabel 2. Komposisi TCBSA dari OXOID**

Unsur-unsur	Jumlah (g/l)
Yeast extract powder	5,0
Bacteriological peptone	10,0
Sodium thiosulphate	10,0
Sodium citrate	10,0
Oxbile	8,0
Sucrose	20,0
Sodium chloride	10,0
Ferric citrate	10,0
Bromothymol blue	0,04
Thymol blue	0,04
Agar	14

Tabel 3. Komposisi NB dari OXOID

Unsur-unsur	Jumlah (g/l)
Lab lemco powder	1,0
Yeast extract	2,0
Peptone	5,0
Sodium chloride	5,0

Lampiran 3. Hasil Uji MIC



Lampiran 4. Data Perhitungan Zona Hambat Bakteri *Vibrio harveyi*

A. Data Perhitungan Zona Hambat Bakteri *Vibrio harveyi*

Perlakuan (%)	Diameter Daerah Hambatan (mm)			Total	Rata-rata	STD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
3	6,4	7,7	7,5	21,60	7.20	0,7
5	8,4	9,3	7,7	25,40	8.47	0,802
7	9,3	9,7	10,1	29,10	9.70	0,4
9	10,5	10,9	8,2	29,60	9.87	1,457
11	9,9	10,3	9,5	29,70	9.90	0,4
13	10,5	10,9	9,4	30,80	10,27	0,77
				$\Sigma = 166,20$		

B. Perhitungan Jumlah Kuadratik

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{(166,20)^2}{18} = \frac{27622,44}{18} = 1534,58$$

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= (6,4^2 + 7,7^2 + 7,5^2 + 8,4^2 + 9,3^2 + 7,7^2 + 9,3^2 + 9,7^2 + 10,1^2 + \\ &\quad 10,5^2 \\ &\quad + 10,9^2 + 8,2^2 + 9,9^2 + 10,3^2 + 9,5^2 + 10,5^2 + 10,9^2 + 9,4^2) - \\ &1534,58 \\ &= 1563,5 - 1534,58 \\ &= 28,92 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(21,60) + (25,40) + (29,10) + (29,60) + (29,70) + (30,80)}{1534,58} - \\ &= \frac{1555,14 - 1534,58}{3} \\ &= 20,56 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= 28,92 - 20,56 \\ &= 8,36 \end{aligned}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)**C. Tabel Sidik Ragam**

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	5	20,56	4,11	5,902**	3,11	5,06
Acak	12	8,36	0,70			
Total	17					

Keterangan : * * berbeda sangat nyata

Karena F hitung $> F$ 1%, maka perlakuan pemberian ekstrak daun binahong dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh sangat nyata terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi*

D. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk 5% dan 1%

$$\begin{aligned} SED &= \sqrt{\frac{2 KT Acak}{ulangan}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,70}{3}} \\ &= 0,682 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} BNT\ 5\% &= t\ 5\% \times SED \\ &= 2,179 \times 0,682 \\ &= 1,486 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} BNT\ 1\% &= t\ 1\% \times SED \\ &= 3,055 \times 0,682 \\ &= 2,083 \end{aligned}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)**E. Tabel Uji Beda Nyata Terkecil**

Rataan	A=7,20	B=8,47	C=9,70	D=9,87	E=9,90	F=10,27	Notasi
A = 7,20	-						a
B = 8,47	1,27 ns	-					ab
C = 9,70	2,5**	1,23 ns	-				bc
D = 9,87	2,67**	1,4 ns	0,17 ns	-			bc
E = 9,90	2,7**	1,43 ns	0,20 ns	0,03 ns	-		bc
F = 10,27	3,07**	1,8*	0,57 ns	0,40 ns	0,37 ns	-	c

Urutan perlakuan terbaik adalah F → E / D / C → B → A

F. Tabel analisa Regresi Linier

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)				
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik	Kuintik
5%	21,6	-5	+5	-5	+1	-1
10%	25,4	-3	-1	+7	-3	+5
15%	29,1	-1	-4	+4	+2	-10
20%	29,6	+1	-4	-4	+2	+10
25%	29,7	+3	-1	-7	-3	-5
30%	30,8	+5	+5	+5	+1	+1
Q=Σ(Ci*Ti)		59,4	-27,9	13,9	4,5	-7,3
Kr=(ΣCi ²)r		210	252	540	84	756
JK=Q ² /Kr		16,80	3,09	0,36	0,24	0,07

G. Tabel Analisa Sidik Ragam Regresi

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	20,56	4,11	-		
▪ Linier	1	16,802	16,80	24,12**	4,75	9,33
▪ Kuadratik	1	3,089	3,09	4,43 ns		
▪ Kubik	1	0,358	0,36	0,51 ns		
▪ Kuartik	1	0,241	0,24	0,35 ns		
▪ Kuintik	1	0,070	0,07	0,10 ns		
Acak	12	8,360	0,70			
Total	17	-				

Lampiran 4. (Lanjutan)

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

* Berbeda nyata

ns Tidak berbeda Nyata

Berdasarkan daftar sidik ragam regresi, regresi yang paling sesuai adalah regresi linier

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Linier} &= \frac{JK\text{Linier}}{JK\text{Linier} + JK\text{Acak}} \\ &= \frac{16,802}{16,802 + 8,360} \\ &= 0,6677 = 0,67 \end{aligned}$$

$$r = \sqrt{0,67} = 0,81716 = 0,82$$

H. Persamaan Regresi Linier Dengan Rumus $Y=b_0 + b_1X$

Persamaan Umum : $Y = b_0 + b_1x$

Perlakuan	Konsentrasi (X)	Diameter (Y)	x.y	x^2
A	3	6,4	19,2	9
	3	7,7	23,1	9
	3	7,5	22,5	9
B	5	8,4	42	25
	5	9,3	46,5	25
	5	7,7	38,5	25
C	7	9,3	65,1	49
	7	9,7	67,9	49
	7	10,1	70,7	49
D	9	10,5	94,5	81
	9	10,9	98,1	81
	9	8,2	73,8	81
E	11	9,9	108,9	121
	11	10,3	113,3	121
	11	9,5	104,5	121
F	13	10,5	136,5	169
	13	10,9	141,7	169
	13	9,4	122,2	169
Jumlah	$\sum x = 144$	$\sum y = 166,2$	$\sum xy = 1389$	$\sum x^2 = 1362$
Rerata	$x = 8$	$y = 9,23$	-	-

Lampiran 4. (Lanjutan)

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{1389 - \frac{144 \times 166,2}{18}}{1362 - \frac{(144)^2}{18}} = 0,28$$

$$\begin{aligned} b_0 &= \bar{y} - b_1 x \\ &= 9,23 - (0,28 \times 8) \\ &= 6,97 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Y &= b_0 + b_1 x \\ Y &= 6,97 + 0,28 x \end{aligned}$$

$$X = 3 \longrightarrow Y = 6,97 + 0,28 (3) = 7,838$$

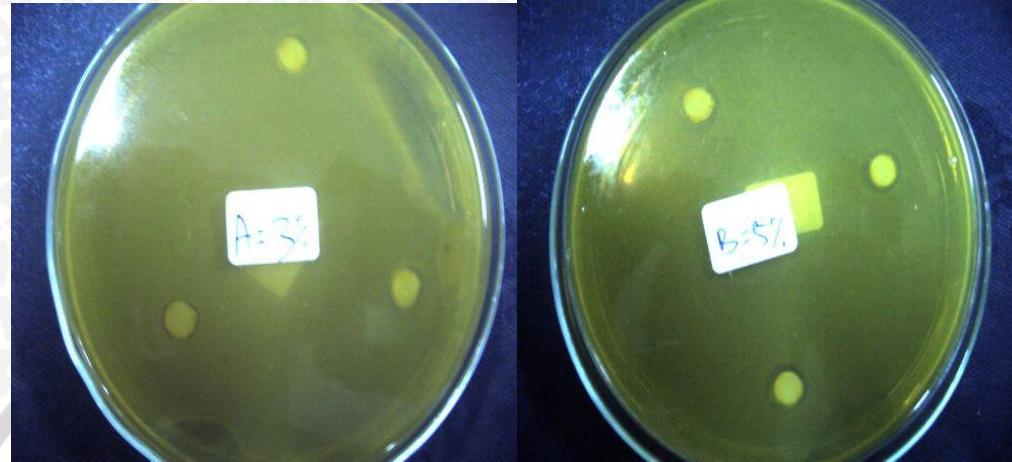
$$X = 5 \longrightarrow Y = 6,97 + 0,28 (5) = 8,404$$

$$X = 7 \longrightarrow Y = 6,97 + 0,28 (7) = 8,97$$

$$X = 9 \longrightarrow Y = 6,97 + 0,28 (9) = 9,535$$

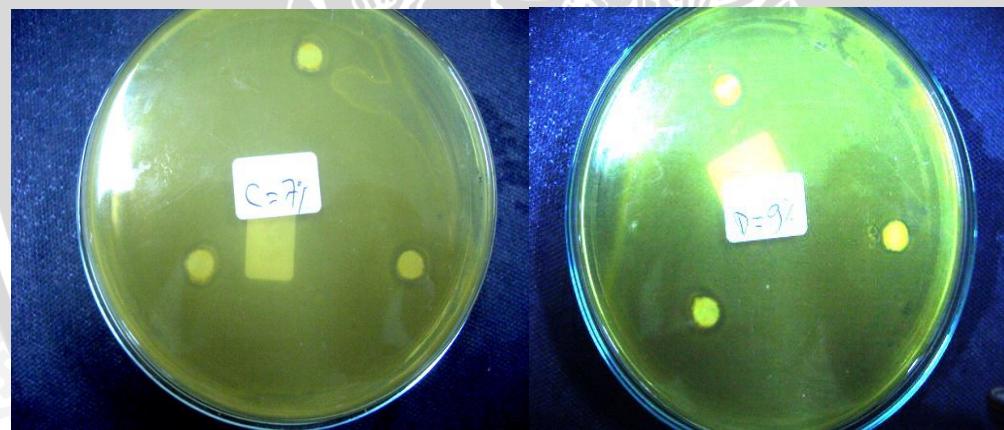
$$X = 11 \longrightarrow Y = 6,97 + 0,28 (11) = 10,101$$

$$X = 13 \longrightarrow Y = 6,97 + 0,28 (13) = 10,667$$

Lampiran 5. Hasil Uji Cakram

Konsentrasi 3%

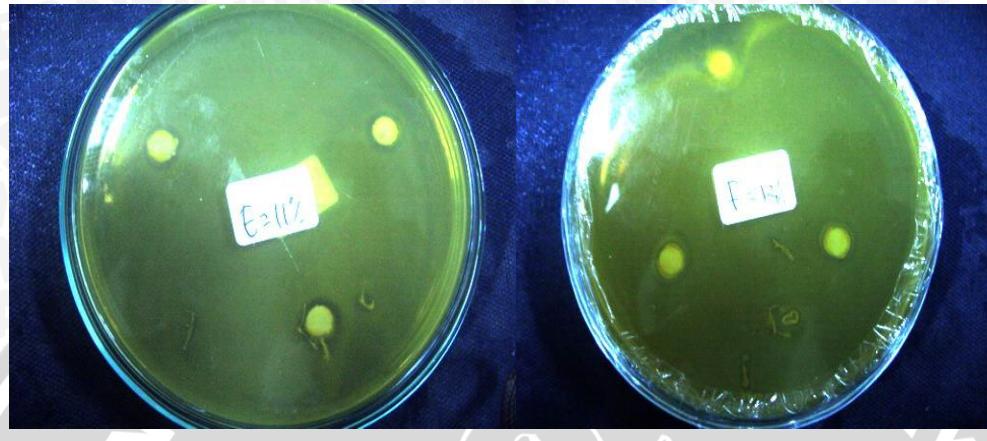
Konsentrasi 5%



Konsentrasi 7%

Konsentrasi 9%

Lampiran 5. (Lanjutan)



Konsentrasi 11%

Konsentrasi 13%



