

BACTERIA GROWTH, MEET BEEF.

KK
KKC
636 089 5372
Tya
P.



PEMBUATAN MEDIA PERTUMBUHAN BEBERAPA KUMAN
DARI EKSTRAK DAGING SAPI

Oleh :

Wiwiek Tyasningsih, drh., MKes.
Suryanie Sarudji, drh., MKes.
Sudarno, Ir.

022099141

3000 220 99 3141

DIBIYAI PROYEK PENGKAJIAN DAN PENELITIAN ILMU PENGETAHUAN TERAPAN
DENGAN SURAT PERJANJIAN PELAKSANAAN PENELITIAN NOMOR /P2IPT/ /1998
DIREKTORAT PEMBINAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN PADA MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

MILIK
PEPUSK. BAAV
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA


FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
JANUARI, 1999


LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA

1. a. Judul Penelitian : PEMBUATAN MEDIA PERTUMBUHAN BEBERAPA KUMAN DARI EKSTRAK DAGING SAPI
- b. Macam Penelitian : () Dasar () Terapan
() Pengembangan
- c. Katagori : I/II/III
2. Ketua Peneliti :
 - a. Nama Lengkap dan Gelar : Wiwiek Tyasningsih, drh., MKes.
 - b. Jenis Kelamin : L/P
 - c. Pangkat/Golongan/Nip : Penata/III-C/131 760 369
 - d. Jabatan fungsional : Lektor Muda
 - e. Fakultas/Jurusan : Kedokteran Hewan/IPH-Kesmavet
 - f. Universitas : Airlangga
 - g. Bidang Ilmu yang diteliti : Bakteriologi
3. Jumlah Tm Peneliti : 3 orang
4. Lokasi Penelitian : Lab. Bakteriologi FKH- Unair
5. Bila penelitian ini merupakan peningkatan kerjasama kelembagaan sebutkan.
 - a. Nama Instansi : -
 - b. Alamat : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 5 bulan
7. Biaya yang diperlukan : Rp. 4.500.000,-
(Empat Juta Lima Ratus Ribu Rupiah)

Surabaya, 1 Januari 1999
Ketua Peneliti,

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Univ. Airlangga


Dr. Ismudiono, MS., drh.
Nip. 130 687 297


Wiwiek Tyasningsih, MKes., drh.
Nip. 131 760 369

Mengetahui,
Ketua Lembaga Penelitian


Prof. Dr. Noor Cholies Zaini
Nip. 130 355 372

PEMBUATAN MEDIA PERTUMBUHAN BEBERAPA KUMAN DARI EKSTRAK DAGING SAPI

Wiwiek Tyasningsih*; Suryanie*; Sudarno*

RINGKASAN

Untuk dapat ditumbuhi kuman, "Artificial Medium" (medium perbenihan buatan) memerlukan berbagai persyaratan, yaitu adanya zat makanan (nutrisi), kondisi pH medium, suhu dan kondisi udara lingkungan pertumbuhan kuman. Nutrisi meliputi sumber energi, sumber karbon, sumber nitrogen, berbagai mineral terutama belerang (sulfur), fosfor, dan aktivator enzim (Mg, K, Ca, Fe, Mn, Mo, Co, Cu, dan Zn). Kondisi pH medium tergantung jenis kumannya. Kuman neutrofilik tumbuh pada pH 6,0 - 8,0, kuman asidofilik tumbuh pada pH 3,0 - 6,0 sedangkan alkalifilik tumbuh pada pH 8,0 - 10,0. Sebenarnya daging sapi menyediakan bahan nutrisi seperti di atas. Forrest *et al* (1975), Lawrie (1975), dan Buckle *et al* (1985) menyatakan bahwa otot skeletal mengandung air 65-80% (75%), Protein 16-22% (18,5%), Lipid 1,5-13% (3%) - yang terdiri berbagai fraksi, Substansi non protein nitrogen 1,5%, Karbohidrat dan substansi non nitrogen 1,0%, Cl 0,1%, mineral K 1,0%, Fosfor 0,2%, Sulfur 0,2%, Na 0,1% serta Mg, Ca, Fe, Co, Cu, Zn, Ni, dan Mn 0,1%. Dari komposisi komponen otot skeletal tersebut di atas terlihat bahwa komponen nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan kuman dapat disediakan dari daging sapi.

lab. bakteriologi dan mikologi fkh unair

Dengan demikian dari Estrak Daging Sapi dapat dibuat media pertumbuhan kuman.

Tujuan penelitian ini adalah membuat media sederhana dari Estrak Daging Sapi yang dapat ditumbuhi berbagai kuman sehingga membatasi ketergantungan dengan media impor yang harganya mahal. Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah membantu laboratorium mikrobiologi di daerah yang menghadapi kendala keterbatasan media untuk dapat membuat media sendiri serta mengurangi ketergantungan dari luar dan pengeluaran devisa negara.

Penelitian dilakukan dengan menumbuhkan kuman *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada media yang dibuat dari Ekstrak Daging Sapi, lalu dibandingkan dengan pertumbuhan kuman yang sama pada media sederhana Nutrient Agar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua kuman uji *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada media buatan dari ekstrak daging sapi. Kuman *Escherichia coli* tumbuh lebih subur pada media Estrak Daging Sapi, sedangkan kuman *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas auroginosa* tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, tetapi untuk kuman *Bacillus subtilis* pertumbuhan pada NA lebih subur dibandingkan dengan media Estrak Daging Sapi.

PREPARATION OF ARTIFICIAL MEDIUM FROM EXTRACT OF LEAN BEEF FOR THE GROWTH OF SOME BACTERIA

Wiwiek Tyasningsih*; Suryanie*; Sudarno*

SUMMARY

The requisitions of Artificial Medium to be grown by bacteria are the medium to be present of nutritions, condition of temperature, pH and O₂ environment are adequate. The nutrition enclosed of sources of energy, carbon, nitrogen, and any minerals especially for sulfur, fosfor, and enzym activators (Mg, K, Ca Fe, Mn, Mo, Cu, Co and Zn). Condition of pH depend on closely by many kind of bacteria. Neutrophilic bacteria grew on pH 6,0-8,0, acidophilic bacteria needed pH of 3,0 - 6,0, and alkalifilic bacteria grew on media which pH of 8,0 - 10,0.

In fact the lean beef contain many substances which are needed to grow of bacteria. The substances are water 75 %, Protein 18,5 %, Lipid 3 %, Nitrogens non protein 1,5 %, carbohydrat and non nitrogen substaces 1%, Cl 0,1 %, mineral of K 1 %, Fosfor 0,2 %, sulfor 0,2 %, Na 0,1 %, and Mg, Ca, Fe, Co, Cu,, Zn, Ni and Mn 0,1 % respectively (Forrest et al, 1975; Lawrie, 1975; Buckle et al, 1985). Thus, from extract of lean beef will be able to make an medium to grow of bacteria.

The porpuse of this research was to make the simple medium from extract of meat that can be grow by bacteria. So the result of this research can be used to limited of dependence on the out side of countries and limited of disappearance of

lab. bakteriologi dan mikologi fkh unair

divisa.

The research has been done by cultivation bacteria of *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* on media, which are made from extract of lean beef. On the based of sum and diameters colonies of bacteria, study showed that the media were prepared from extract of lean beef could be grown by the bacteria. Even the *Escherichia coli* more flourish than on the Nutrient Agar.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala karunia Nya sehingga laporan hasil penelitian ini dapat disusun dan disumbangkan sebaik-baiknya. Semoga dapat berguna bagi yang memerlukan.

Sehubungan dengan itu, disampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Rektor Universitas Airlangga, Ketua Lembaga Penelitian dan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Unair serta segala pihak yang secara langsung terlibat, atau membantu dalam kegiatan penelitian ini.

Segala kekurangan yang masih ada, memerlukan perbaikan dan bantuan pemikiran yang konstruktif, agar hasil penelitian ini berkesinambungan dan berarti bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, Desember 1998

DAFTAR ISI

	halaman
LEMBARAN IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR/ILUSTRASI	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB. I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Permasalahan	1
I.2. Rumusan Masalah	3
I.3. Hipotesis	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	6
III.1. Tujuan Penelitian	6
III.2. Manfaat Penelitian	6
BAB IV. METODE PENELITIAN	7
IV.1. Tempat Penelitian	7
IV.2. Variabel Penelitian	7
IV.3. Batasan Operasional	7
IV.4. Bahan Penelitian	8
IV.5. Alat Penelitian	9
IV.6. Prosedur Penelitian	9
IV.7. Analisis Data	15
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	20

VI.1. Kesimpulan	20
VI.2. Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN	23

DAFTAR TABEL

halaman

Tabel 1. Rata-rata jumlah kuman yang tumbuh pada media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi yang ditambah Pepton, dan Nutrient Agar (per ml)	17
Tabel 2. Rata-rata diameter koloni kuman yang tumbuh pada media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi yang ditambah Pepton, dan Nutrient Agar (per ml)	17

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 1. Pertumbuhan Kuman <i>Staphylococcus aureus</i> pada Media Ekstrak Daging Sapi Diban - ding Dengan Nutrient Agar	39
Gambar 2. Pertumbuhan Kuman <i>Escherichia coli</i> pada Media Ekstrak Daging Sapi Dibanding Dengan Nutrient Agar	40

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 1. Pertumbuhan kuman <i>B. subtilis</i> pada media Ekstrak Daging Sapi dan Media Nutrient Agar	23
Lampiran 2. Pertumbuhan kuman <i>S. aureus</i> pada media Ekstrak Daging Sapi dan Media Nutrient Agar	25
Lampiran 3. Pertumbuhan kuman <i>E. coli</i> pada media Ekstrak Daging Sapi dan Media Nutrient Agar	27
Lampiran 4. Pertumbuhan kuman <i>P. aeruginosa</i> pada media Ekstrak Daging Sapi dan Media Nutrient Agar	29
Lampiran 5. Ukuran Diameter Koloni <i>B. subtilis</i> yang Tumbuh pada Media Ekstrak Daging Sapi dan Media Nutrient Agar	31
Lampiran 6. Ukuran Diameter Koloni <i>S. aureus</i> yang Tumbuh pada Media Ekstrak Daging Sapi dan Media Nutrient Agar	33
Lampiran 7. Ukuran Diameter Koloni <i>E. coli</i> yang Tumbuh pada Media Ekstrak Daging Sapi dan Media Nutrient Agar	35
Lampiran 8. Ukuran Diameter Koloni <i>P. aeruginosa</i> yang Tumbuh pada Media Ekstrak Daging Sapi dan Media Nutrient Agar	37

BAB. I PENDAHULUAN

Latar Belakang Permasalahan

Sejak dahulu bahan "Artificial Medium" (medium perbenihan buatan) untuk menumbuhkan kuman didapat dari "luar" (impor). Bahan ini harganya mahal dan tidak tersedia dalam kemasan kecil. Pada hal untuk tiap jenis kuman media pertumbuhannya berlainan, sehingga untuk sejumlah kuman tertentu diperlukan sejumlah media tertentu pula, yang tentu biayanya menjadi besar, apalagi untuk mengisolasi dan mengidentifikasi satu jenis kuman memerlukan media isolasi dan sederetan media identifikasi, media ini harus tersedia di hampir semua perguruan tinggi yang berinduk pada ilmu hayati seperti Kedokteran, Kedokteran Hewan, Biologi, Pertanian, Farmasi dan Teknologi Pangan. Belum lagi laboratorium laboratorium Mikrobiologi yang dikelola instansi tertentu di berbagai daerah maupun yang dikelola oleh swasta dan Industri tertentu.

Kegunaan isolasi dan identifikasi kuman pada hewan dan manusia adalah : 1) untuk mendiagnosis penyakit yang disebabkan kuman; 2) untuk memperbanyak kuman dalam rangka membuat vaksinnnya; 3) untuk mempelajari sifatnya dalam rangka menemukan dan mengetahui kepekaannya terhadap obat; dan 4) untuk digunakan dalam bidang rekayasa atau bioteknologi.

Daging sapi mudah mengalami pembusukan karena mempunyai komposisi gizi yang baik, pH yang mendekati normal dan kelembaban yang tinggi. Proses pembusukan tersebut karena

aktivitas mikroorganisme. (Brandy, 1971; Soehartojo, 1981 dan Buckle et al. 1985). Wiwiek Tyasningsih (1996) menemukan bakteri pada daging sapi yang dijual di Pasar dan tidak mengalami perlakuan pengawetan sebanyak $24.480 \pm 1,1474$. Sedangkan Asih Rahayu (1997) menemukan bahwa jumlah kuman pencemar pada daging sapi yang disimpan dalam suhu kamar, meningkat sesuai dengan waktu. Artinya makin lama daging tersebut disimpan jumlah kumannya semakin meningkat.

Dengan ditemukannya banyak kuman pada daging sapi yang semakin lama disimpan jumlahnya semakin meningkat, dan mudahnya daging tersebut menjadi busuk karena aktivitas kuman, menunjukkan bahwa daging sapi mengandung cukup bahan yang diperlukan untuk pertumbuhan kuman, sehingga dari ekstrak daging sapi dapat dibuat media pertumbuhan kuman. Seperti yang dikatakan oleh Pelczar dan Chan (1986), untuk kultivasi rutin bakteri diperlukan berbagai substansi rumit seperti pepton, ekstrak daging, dan kadang ekstrak khamir yang dilarutkan dalam air, sehingga menghasilkan media yang menunjang pertumbuhan berbagai ragam bakteri dan mikroorganisme lainnya. Selanjutnya dijelaskan yang dimaksud dengan ekstrak daging adalah suatu ekstrak cair jaringan daging yang empuk, dikonsentrasikan menjadi pasta. Ekstrak ini mengandung jaringan hewan yang dapat larut dalam air seperti karbohidrat, senyawa nitrogen organik, vitamin yang larut dalam air dan berbagai jenis garam.

Rumusan Masalah

Berdasarkan berbagai hal yang diuraikan di atas, maka timbul masalah apakah berbagai kuman yang dapat tumbuh pada media sederhana Agar Nutrien seperti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh dan sama suburanya dengan media yang dibuat dari ekstrak daging sapi.

Hipotesis

Karena daging sapi mengandung bahan-bahan yang diperlukan untuk pertumbuhan kuman dalam jumlah yang tinggi dan seimbang, dan berdasarkan berbagai penelitian menunjukkan kerusakan daging disebabkan oleh karena adanya pertumbuhan kuman, maka dapat ditarik hipotesa bahwa **dari ekstrak daging sapi dapat dibuat media perbenihan kuman yang sama baiknya dengan media sederhana Agar Nutrien (Impor).**

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Supaya dapat ditumbuhi kuman, "Artificial Medium" memerlukan berbagai persyaratan, yaitu adanya zat makanan (nutrisi), kondisi pH medium, suhu dan kondisi udara lingkungan pertumbuhan kuman. Nutrisi meliputi sumber energi, sumber karbon, sumber nitrogen, berbagai mineral terutama belerang (sulfur), fosfor, dan aktivator enzim (Mg, K, Ca, Fe, Mn, Mo, Co, Cu, dan Zn). Kondisi pH medium tergantung jenis kumannya. Kuman neutrofilik tumbuh pada pH 6,0 - 8,0, kuman asidofilik tumbuh pada pH 3,0 - 6,0 sedangkan alkalifilik tumbuh pada pH 8,0 - 10,0. Seperti menurut Jawetz *et al* (1986), Pelczar dan Chan (1986), dan Lay dan Hastowo (1988) untuk pertumbuhan kuman memerlukan bahan nutrisi berupa sumber energi, sumber karbon, sumber nitrogen, berbagai mineral terutama belerang (sulfur), fosfor, aktivator enzim (Mg, K, Ca, Fe, Mn, Mo, Co, Cu, dan Zn); pH, suhu dan kondisi udara lingkungan pertumbuhan kuman. Bila bahan-bahan tersebut tercukupi kuman mampu membentuk makromolekul yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel. Bahan tersebut merupakan faktor pertumbuhan kuman, yang tidak dapat disintesis sendiri oleh kuman sehingga harus ada dalam media pertumbuhan kuman. Bahan nutrisi tersebut sebenarnya dapat disediakan oleh daging sapi. Forrest *et al* (1975), Lawrie (1975), dan Buckle *et al* (1985) menyatakan bawa otot skeletal mengandung air 65-80% (75%), Protein 16-22% (18,5%), Lipid 1,5-13% (3%) - yang terdiri berbagai fraksi, Substansi non protein nitrogen 1,5%,

Karbohidrat dan substansi non nitrogen 1,0%, Cl 0,1%, mineral K 1,0%, Fosfor 0,2%, Sulfur 0,2%, Na 0,1% serta Mg, Ca, Fe, Co, Cu Zn Ni dan Mn 0,1%. Dari komposisi komponen otot skeletal tersebut di atas terlihat bahwa komponen nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan kuman dapat disediakan dari daging sapi. (Buckle *et al*, 1985; Soeparno, 1992) menjelaskan bahwa salah satu sebab daging mudah busuk karena mempunyai komposisi gizi yang baik, proteinnya tinggi dengan asam amino esensialnya lengkap dan perbandingan yang seimbang. Selain itu daging juga mengandung lemak, karbohidrat dan komponen anorganik sehingga juga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan kuman.

Kuman *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomas aeruginosa* adalah kelompok kuman aerob-heteretrof. Kelompok kuman ini memerlukan sumber energi dari oksigen dan oksidasi senyawa organik (berupa karbohidrat), sumber karbon dari CO₂ atau alkohol atau asam lemak atau karbohidrat, dan sumber Nitrogen dari N₂ atau NaNO₂ atau NH₄Cl. Sedangkan kondisi keasaman (pH) untuk pertumbuhannya (kuman golongan Neutrofilic) adalah 6,0 - 8,0 dengan suhu optimal (mesofilik) 37°C (Joklik *et al*, 1984, Jawetz *et al*, 1986, dan Pelczar dan Chan, 1986).

BAB. III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Penelitian

Untuk membuat media sederhana dari Estrak Daging Sapi yang dapat ditumbuhi berbagai kuman sehingga membatasi ketergantungan dengan media impor yang harganya mahal.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu

1. Laboratorium mikrobiologi di daerah yang menghadapi kendala keterbatasan media untuk dapat membuat media sendiri.
2. Mengurangi ketergantungan dari luar dan mengurangi pengeluaran devisa negara.

BAB. IV METODE PENELITIAN

1. Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi FKH-Unair, mulai Agustus sampai Desember 1998.

2. Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini terdiri dari variabel bebas, variabel tergantung dan variabel kendali. Sebagai variabel bebas adalah media buatan dari Estrak Daging Sapi. Variabel tergantung adalah pertumbuhan kuman yang dapat diukur dari jumlah sel per millimeter dan besar diameter koloni yang terbentuk. Variabel kendali adalah konsentrasi Estrak Daging Sapi dalam larutan pepton. Demikian juga Estrak Daging Sapi yang digunakan pada media buatan adalah seragam. Artinya, semua daging yang digunakan dicampur jadi satu lalu dihancurkan dan diperas. Daging yang dipilih berasal dari paha sapi yang telah dihilangkan lemak, facia dan seratnya. Daging diperoleh dari berbagai pasar daging dan diusahakan tidak berasal dari satu ekor sapi.

3. Batasan operasional

- a. Jumlah kuman adalah jumlah kuman atau colony-forming units per milliliter kuman uji yang tumbuh pada media agar

dengan faktor pengenceran.

Misal dengan pengenceran 100 kali koloni yang terhitung pada media agar adalah 30 koloni, maka jumlah kuman per millimeter adalah 3000 sel (Seeley and VanDemark, 1981).

- b. Diameter koloni kuman adalah ukuran garis tengah koloni kuman yang terpisah yang berasal dari pertumbuhan satu sel kuman.

4. Bahan Penelitian

Bahan penelitian berupa :

1. Isolat Kuman *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* , dan *Escherichia coli*.
2. Bahan yang digunakan untuk menguji sifat kuman dengan cara isolasi dan identifikasi berupa :
 - a. Zat pewarna yang terdiri dari :

Zat pewarna Gram terdiri dari zat warna Gentian Violet, Gram's Iodine, Alkohol aseton, zat warna Safranin.

Zat pewarna sederhana berupa Metilen Biru.
 - b. Bahan yang digunakan untuk Identifikasi terdiri dari Agar Nutrien dan Nutrien cair buatan Difco; Baird Parker Medium, Eosin Methylene Blue Agar, Simmon Sitrat dan SIM (Sulfid Indol Motility) buatan Oxoid; H₂O₂ 3 % serta gas pack dan plasma kelinci.
3. Bahan untuk penelitian utama berupa daging sapi, Nutrient Agar, bahan pengeras agar.

4. Bahan lain sebagai penunjang yaitu kapas, alkohol, aluminium voil, NaCl fisiologis, Bufer phosphat dan aquades steril.

5. Alat Penelitian

Beberapa alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, spuit 1 ml dan 10 ml, Vortex, pemanas bunsen, mikroskop cahaya, gelas obyek, sengkeli, spreader, labu Erlenmeyer 100 ml dan 500 ml, labu ukur atau gelas ukur, rak tabung reaksi, pipet (1 ml, 5 ml dan 10 ml), timbangan analitik sartorius, autoklaf, inkubator, candle jar.

6. Prosedur Penelitian

Penelitian yang dilakukan terdiri dari beberapa tahap yang meliputi :

6.1. Identifikasi sifat *Bacillus subtilis*

Pengujian sifat kuman ini dilakukan untuk memastikan bahwa kuman yang diuji adalah *Bacillus subtilis*, dilakukan dengan berbagai uji atau pemeriksaan yang spesifik.

Pertama isolat kuman diinokulasikan dengan cara streak pada media Agar Nutrien dan dinkubasi selama 24 Jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan *Bacillus subtilis* diamati dengan melihat bentuk, warna, pinggir dan tekstur koloni. Pada agar nutrien

koloni *Bacillus subtilis* berbentuk bulat besar, kasar, pinggir tidak rata, kadang-kadang menyebar. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan mikroskopis. Untuk melihat motilitas (pergerakan) kuman dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopik dari preparat natif, untuk melihat bentuk dan susunan kuman dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopik pewarnaan sederhana metilen biru, dan sifat pewarnaan Gram dengan pemeriksaan mikroskopik pewarnaan Gram. Untuk membedakan dengan *Bacillus cereus* dilakukan uji fermentasi manitol dan pertumbuhan dalam suasana anaerob. *Bacillus subtilis* memfermentasi manitol tetapi tidak tumbuh pada suasana anaerob, sedangkan *Bacillus cereus* tidak memfermentasi manitol tetapi bersifat fakultatif anaerob (Jang et al, 1980).

6.2. Identifikasi sifat *Staphylococcus aureus*

Pengujian untuk membuktikan isolat *Staphylococcus aureus* ini dilakukan dengan berbagai uji spesifik.

Isolat ditumbuhkan dengan cara menggoreskan pada permukaan media Baird Parker Medium dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan pertumbuhan kuman dilakukan dengan melihat bentuk, warna dan sifat koloni. Pada Baird Parker medium koloni *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, berwarna hitam ditengah, dengan pinggir sempit berwarna putih dan dikelilingi zone yang jernih disekitar koloni. Koloni yang diduga *Staphylococcus aureus* tersebut selanjutnya diperiksa secara mikrosko-

pik untuk melihat bentuk, susunan dan sifat pewarnaan Gram. Kuman selanjutnya diidentifikasi dengan uji katalase dan uji koagulase (Jang et al, 1980). Untuk pemeriksaan mikroskopik dilakukan seperti untuk *Bacillus subtilis*. Pemeriksaan fermentasi manitol lakukan bersamaan dengan pemurnian dan perbanyakkan kuman pada media Manitol Salt Agar. Uji katalase dilakukan dengan cara slide test, yaitu larutan H_2O_2 3 % diteteskan di atas glas obyek. Dengan menggunakan sengkeli, biakan kuman murni yang diuji dimasukkan dalam larutan H_2O_2 tersebut dan diamati adanya gelembung-gelembung udara yang terbentuk.

Uji koagulase dilakukan dengan cara uji tabung. Pertama biakan kuman ditanam pada Brain Heart Infusion Broth dan diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Tambahkan 0,5 ml biakan kuman tersebut pada 0,5 ml plasma kelinci, inkubasi $37^{\circ}C$ selama 4 jam dan amati adanya pembekuan plasma.

6.3. Identifikasi sifat *Escherichia coli*

Pengujian sifat kuman ini dilakukan dengan berbagai uji spesifik.

Isolat kuman ditumbuhkan pada media Eosin Methylene Blue-Agar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$. Warna koloni *Escherichia coli* pada media ini khas hijau metalik, diamati keesokan harinya. Untuk memastikan koloni yang diduga *Escherichia coli* tersebut dilakukan uji Indol dan sitrat. Bila diperlukan dilakukan pula uji Triple Sugar Iron Agar (TSI-A), dan

fermentasi gula-gula. Biakan kuman juga diperiksa dibawah mikroskop terutama untuk melihat bentuk, pergerakan, susunan dan sifat Gramnya (Jang et al, 1980).

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan seperti kedua kuman di atas. Uji indol dilakukan dengan menanam kuman pada media sulfid indol motility. Dengan menggunakan needle (Jarum), biakan kuman ditusukkan pada media sedalam $\frac{3}{4}$ nya, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Pengamatan dilakukan dengan memberikan 0,5 ml khloroform secara perlahan-lahan melalui dinding tabung, kemudian dengan cara yang sama ditambahkan 0,5 ml reagen Kovac. Indol positif dapat dilihat dari terbentuknya cincin jingga yang terletak diantara 2 lapisan khloroform dan reagen Kovac.

Untuk mengetahui pertumbuhan kuman pada medium Simon's sitrat, kuman dengan menggunakan sengkeliit digoreskan pada media sitrat agar miring kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C . Pengamatan dilakukan dengan melihat pertumbuhan kuman dan perubahan warna media dari hijau menjadi biru.

6.4. Identifikasi sifat *Pseudomonas aeruginosa*

Pengujian sifat kuman ini dilakukan dengan berbagai uji spesifik.

Isolat kuman ditumbuhkan pada media Agar Nutrien dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Warna koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada media ini adalah jernih kebiruan. Untuk



memastikan koloni yang diduga *Pseudomonas* dilakukan uji Triple Sugar Iron Agar (TSI-A), dan fermentasi gula-gula. Biakan kuman juga diperiksa dibawah mikroskop terutama untuk melihat bentuk, pergerakan, susunan dan sifat Gramnya (Jang et al, 1980).

6.5. Menumbuhkan kuman pada media buatan Ekstrak Daging Sapi

6.5.1. Mempersiapkan media Ekstrak Daging Sapi

Media yang akan dibuat ini diklasifikasikan sebagai media kompleks karena komposisi kimianya tidak diketahui secara persis. Media ini dapat disetarakan dengan media agar nutrien yang bahannya terdiri dari campuran bahan organik kompleks. Bahan tersebut berupa Estrak Daging Sapi, pepton dan agar. Estrak Daging Sapi adalah ekstrak dalam bentuk powder yang diperoleh dari penanasan jaringan daging sapi empuk yang dihaluskan dan dipanaskan dalam air lalu diuapkan membentuk powder. Komposisi sebagai media untuk pertumbuhan kuman adalah 3 gram Estrak Daging Sapi ditambah 5 gram pepton dan 15 gram agar dilarutkan dalam 1000 ml air distilasi (Pelczar and Chan 1986). Pada penelitian ini dicoba juga membuat media yang terdiri dari 8 gram Estrak Daging Sapi ditambah 15 gram agar dan dilarutkan dalam 1000 ml air distilasi. Estrak Daging Sapi dibuat dengan cara memotong daging sapi sekecil mungkin, lalu dihancurkan sampai halus dengan "blender". Daging halus tersebut kemudian ditambah aquades secukupnya, dipanaskan suhu 100°C selama 20 menit lalu diperas dengan kain steril dan disaring melalui filter untuk sterilisasi. Selanjutnya air dari perasan daging

di atas diuapkan dalam oven 80°C selama 18 - 24 jam sehingga terbentuk powder. Dari powder yang dihasilkan dibuat media :

- a. 8 gram Ekstrak + 15 gram Agar + 1000 ml aquades.
- b. 3 gram Ekstrak + 5 gram Pepton + 15 gram Agar + 1000 ml aquades
- c. Dibuat juga media Nutrient Agar dari 25 - 28 gram + 1000 ml aquades

Ketiga komposisi di atas dipanaskan sampai mendidih lalu disterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit. Setelah itu dituangkan dalam cawan Petri. Tiap cawan Petri menerima kurang lebih 20 ml bahan media, kemudian biarkan media mengeras. Kondisi pH medium dibuat sesuai dengan kondisi pertumbuhan kuman dan sesuai dengan lingkungan pH untuk media agar nutrien yaitu $7,4 \pm 0,2$. Kini media siap ditanami kuman.

6.5.2. Mempersiapkan inokulat kuman yang akan ditanam

Inokulat kuman dipersiapkan untuk mendapatkan jumlah sel kuman kurang lebih 10^8 sel per milliliter. Caranya dengan mensuspensikan 5 koloni kuman ke dalam 5 milliliter Mueller Hinton infusion (MHI) atau Brain Heart Infusion (BHI) lalu disetarakan dengan larutan standar Mc Farland nomor satu. Jika kekeruhannya tidak sebanding, tambahkan larutan MHI atau BHI sampai dicapai kekeruhan yang sesuai dengan kekeruhan larutan Mc Farland tersebut. Kemudian suspensi kuman yang sudah setara dengan larutan Mc Farland nomor satu tersebut, diencerkan 3

kali untuk mendapatkan suspensi kuman dengan jumlah 10^8 sel per milliliter, lalu dieramkan selama 2-5 jam dalam inkubator suhu 37°C . Beishir (1983) menyatakan syarat jumlah kuman yang diperlukan untuk penentuan uji kepekaan kuman adalah $10^5 - 10^8$ sel per ml. Penentuan jumlah kuman ini dilakukan pada masing-masing *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

6.5.3. Menguji pertumbuhan setiap kuman pada media buatan

Setiap media yang telah disiapkan diinokulasi dengan masing-masing 0,1 ml kuman uji *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* dari suspensi kuman yang telah disiapkan di atas. Kuman tersebut diteteskan pada permukaan media lalu disebar dengan spreader. Biarkan beberapa saat agar cairan suspensi kuman berdifusi dalam media, kemudian media diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Besoknya diamati terhadap pertumbuhan kuman. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan dibandingkan satu dengan yang lainnya. Penghitungan koloni metoda ini dilakukan pada plate yang mengandung jumlah koloni antara 20 - 200. Jika jumlah koloni terlalu banyak dari itu dan sulit dihitung dilakukan pengenceran suspensi kuman (Seeley and VanDemark, 1981). Begitu juga secara random dari masing-masing kuman dipilih 5 koloni untuk diukur diameternya. Selanjutnya jumlah dan besar diameter koloni kuman yang tumbuh pada media buatan Estrak Daging Sapi

tersebut dibandingkan pula dengan yang tumbuh pada media sederhana Agar Nutrien.

7. Analisis Data

Untuk membandingkan kesuburan pertumbuhan kuman pada media buatan dari Estrak Daging Sapi dengan media sederhana Agar Nutrien rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap. Analisis data menggunakan Analisis Varian (ANOVA), jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Sudjana, 1992).

BAB. V
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang menunjukkan rata-rata jumlah dan diameter koloni ke 4 macam kuman yang tumbuh pada media yang dibuat dari Kesttrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi yang ditambah dengan Air Pepton, dan Nutrient Agar dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Rata-rata jumlah kuman yang tumbuh pada media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi yang ditambah Pepton, dan Nutrient Agar (per ml)

JENIS KUMAN	JENIS MEDIA PERTUMBUHAN		
	ED	ED + P	NA
B. subtilis	25.600.000	32.400.000	824.000.000
S. aureus	104.600.000	91.600.000	101.600.000
E. coli	127.400.000	116.600.000	32.400.000
P. aeruginosa	30.200.000	19.440.000	25.000.000

ED = Ekstrak Daging; ED + P = Ekstrak Daging + Air Pepton NA = Nutrient Agar

Tabel 2. Rata-rata diameter koloni kuman yang tumbuh pada media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi yang ditambah Pepton dan Nutrient Agar (per ml)

JENIS KUMAN	JENIS MEDIA PERTUMBUHAN		
	ED	ED + P	NA
B. subtilis	1,88	1,86	5,58
S. aureus	0,92	0,74	0,98
E. coli	2,03	2,18	2,39
P. aeruginosa	1,92	1,78	0.90

ED = Ekstrak Daging, ED + P = Ekstrak Daging + Air Pepton NA = Nutrient Agar

Sedangkan hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 1 - 8 dan gambar 1 - 4. Pada lampiran dan gambar tersebut menunjukkan bahwa semua kuman uji *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada media buatan dari Ekstrak Daging Sapi maupun Ekstrak Daging Sapi yang ditambah Pepton. Analisa Sidik Ragam yang diteruskan dengan uji Beda Nyata Terkecil pada $P < 0,05$ menunjukkan bahwa kuman *Escherichia coli* tumbuh lebih subur pada media buatan dari Ekstrak Daging Sapi dan Ekstrak Daging Sapi yang ditambah Pepton dibandingkan dengan media sederhana NA buatan oxoid (lampiran 3 dan 7). Analisis serupa untuk kuman *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara yang tumbuh di Ekstrak Daging Sapi dengan yang tumbuh di NA, artinya pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada media buatan dari Ekstrak Daging Sapi sama suburnya dengan pada NA (lampiran 2,4,6 dan 8). Tetapi untuk kuman *Bacillus subtilis* pertumbuhan pada Na lebih subur dibandingkan dengan media Ekstrak Daging Sapi (lampiran 1 dan 4).

Sebenarnya semua mikroorganisme, termasuk bakteri dan fungi dapat ditumbuhkan pada substrat makanan yang bergizi. Sebagaimana perbedaan berbagai mikroorganisme, maka terdapat perbedaan juga dalam kebutuhannya terhadap bahan makanan, dengan demikian diperlukan pula berbagai media yang berbeda untuk pertumbuhan mikroorganisme.

Pertumbuhan bakteri merupakan hasil interaksi kompleks

antara berbagai nutrisi dan substansi aktif dan dipengaruhi oleh faktor-faktor fisik seperti temperatur, pH, potensial redok, tekanan oksigen dan sebagainya. Semua mikroorganisme memerlukan air untuk pertumbuhan, disamping berbagai element seperti karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, sulfur, fosfor, kalium, kalsium, magnisium dan besi. Beberapa mikroorganisme juga tergantung pada "trace element" seperti mangan, molybdenum, zinc, copper, chlorine dan sebagainya. Beberapa mikroorganisme lain sangat khusus dalam hal kondisi pertumbuhannya dan memerlukan faktor-faktor pertumbuhan lain seperti asam amino, vitamin, purine dan substansi lain yang tidak dapat disintesisnya sendiri.

Sumber setiap bahan makanan berbeda-beda. Karbon diperlukan dalam bentuk senyawa organik yang umumnya digunakan sebagai sumber energi. Oksigen berasal dari atmosfer, hidrogen diambil dari senyawa organik dan dalam beberapa hal khusus berasal dari senyawa anorganik. Umumnya nitrogen didapat dari garam dalam bentuk nitrat atau nitrit atau senyawa ammonium atau dari senyawa yang lebih kompleks seperti asam amino, peptida atau protein. Unsur lain sebagian besar berasal dari garam. Media yang lebih kompleks mengandung berbagai macam ekstrak, hidrolisat dan bahan tambahan-tambahan lainnya.

Ekstrak diperoleh dengan memanaskan substrat dalam air dan kemudian diuapkan menghasilkan powder. Ekstrak tersebut kaya akan protein dengan berat molekul rendah dan faktor-faktor pertumbuhan.

Atas dasar perbedaan berbagai jenis kuman dan juga perbedaan dalam hal kebutuhan akan substrat makanan dan faktor-faktor pertumbuhannya tersebut, maka dikenal kuman yang bersifat obligat aerobe, anaerob, ada yang bersifat proteolitik, pemecah karbohidrat. Demikian juga ada yang bersifat asidofilik, alkalifilik, termofilik, mesofilik dan sebagainya.

Dengan demikian adanya perbedaan pertumbuhan kuman yang diuji yaitu *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada media yang dibuat dari Estrak Daging Sapi dibanding dengan media Nutrient Agar (NA), karena adanya perbedaan kebutuhan nutrisi dan faktor pertumbuhan pada masing-masing kuman dan terdapat perbedaan secara relatif baik kualitatif maupun kuantitatif unsur-unsur nutrisi dan pertumbuhan antara kedua media Estrak Daging Sapi dan Nutrient Agar. *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* lebih subur tumbuh pada Estrak Daging Sapi dari pada NA, sebaliknya *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* lebih subur tumbuh pada NA dari pada Estrak Daging Sapi. Secara kualitatif maupun kuantitatif Estrak Daging Sapi menyediakan cukup sumber nutrisi untuk pertumbuhan optimum kuman *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang tidak cukup disediakan media NA, sebaliknya media NA cukup menyediakan kebutuhan pertumbuhan kuman *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* dari pada media Estrak Daging Sapi.

Kriteria pertumbuhan kuman adalah jumlah koloni dikalikan faktor pertumbuhan dan besarnya koloni. Menurut Pelczar (1986),

ukuran kuman itu terlalu kecil sehingga hanya dapat dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Satuan ukurannya adalah mikrometer dan kuman yang paling umum ukurannya adalah 0,5 - 1,0 X 2,0 - 5,0 mikrometer. Oleh karena itu untuk dapat dilihat oleh mata tanpa bantuan mikroskop diperlukan jumlah kuman tertentu. Jika kuman itu disusun sedemikian rupa tanpa bertumpukan maka diperlukan lebih dari 1000 kuman untuk dapat dilihat sebesar kuman yang dilihat di bawah mikroskop pembesaran 1000 kali. Menurut Collee *et al* (1984), Pelczar (1986), dan Lay dan Hastowo (1988), satu koloni kuman yang terpisah terbentuk dari pertumbuhan satu sel kuman. Sedangkan ukuran koloni yang dapat dilihat secara nyata menurut Collee *et al* (1984) berkisar antara 0,5 - 5,0 mm. Dengan demikian jumlah koloni dan besarnya koloni yang dapat dilihat oleh mata menunjukkan jumlah kuman tertentu dalam koloni tersebut dan sekali gus menunjukkan adanya pertumbuhan kuman. Media yang sesuai dengan menyediakan unsur-unsur makanan dan pertumbuhan yang cukup akan mendorong pertumbuhan kuman yang optimal sehingga menghasilkan jumlah tertentu dengan membentuk koloni yang dapat dilihat dengan mata telanjang. Oleh karena itu pulalah alasan pembatasan jumlah koloni yang boleh dihitung tidak boleh lebih dari 300 koloni pada metode tuang dan 200 koloni pada metode spread, adalah karena jumlah koloni kuman menjadi sangat padat sehingga banyak sel yang membentuk koloni tidak terlihat oleh mata (Seeley and VanDemark, 1981; dan Jawetz *et al*, 1986).

BAB. VI KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian dan hasilnya dianalisis secara statistik maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut.

1. Media buatan dari Estrak Daging Sapi dapat ditumbuhi berbagai kuman seperti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Pertumbuhan kuman *Escherichia coli* lebih subur pada media Estrak Daging Sapi dibandingkan media Agar Nutrien (NA), sedangkan pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* sama suburnya, tetapi *Bacillus subtilis* lebih subur pada NA dibanding pada media Estrak Daging Sapi.

Saran

Saran yang dapat diajukan berdasarkan hasil penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Perlu penelitian lebih lanjut dengan membuat media dari ekstrak daging hewan dan sumber daya alam lainnya serta memodifikasinya menjadi media yang diperkaya, diferensial maupun selektif untuk pertumbuhan kuman-kuman lainnya.
2. Untuk menghemat biaya dan devisa hasil penelitian ini dapat digunakan bagi laboratorium di daerah atau laboratorium mikrobiologi umumnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Asih Rahayu. 1997. Pengaruh Lama Pelayuan Daging Sapi Segar Pada Suhu Refrigerator Ditinjau dari Jumlah Kuman PENCEMAR, pH dan Awal Pembusukan. Thesis. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Hal 41 - 48.
- Beishir L. 1983. Microbiology in Practice, Individualized Instruction for the Allied Health Sciences. 3rd Ed. Harper
- Brandly P.J. 1970. Meat Hygiene. Lea & Febiger. Pp. 301 - 320.
- Buckle K. A., Edwards R. A., Fleet G. H., and Wooton M. 1985. Ilmu Pangan. UI. Press. Jakarta. Hal 227 - 259.
- Forrest J. C., Aberle E. D., Henrich H. B., Judge M. D. and Merkel R. A. 1975. Principle of Meat Science. 1th Ed. Freeman and Co. San Fransisco. USA. pp 70 - 79.
- Jawetz. E., J. L. Melnick and E. A. Adelberg. 1986. Review of Medical Microbiology. 16th ed. Lang Medical Publication Drawers L.Los Altos, California. Pp. 115-117.
- Joklik W. K., H. P. Willett and D. B. Amos. 1984. Zinsser Microbiology. 18th Ed. Appleton-Century-Crofts/Norwalk, Connecticut. 24, 234-237, 673-678.
- Lawrie R. A. 1979. Meat Science. 3rd Ed. Pergamon Press, Oxford. pp. 169 - 180
- Lay B. W., dan S. Hastowo. 1992. Mikrobiologi. Rajawali Pers, Jakarta. 27-41.
- Pelczar M. J., and E. C. S. Chan. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Mc Graw-Hill Book Company, Universitas Indonesia Press. 446-507, 808-813.
- Seeley H. W., and P. J. VanDemark. 1981. Selected Exercises From Microbes in Action. 3rd ed. W. H. Freeman and Company. Sanfrancisco. Pp. 37-41
- Soehartojo R., Songkowo B. 1981. Hygiene Daging. FKH - Unair. Hal 1 - 12.
- Soeparno. 1992. Ilmu dan Teknologi Daging. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. hal 1-5, 199-200, 216-219.
- Sudjana. 1992. Metoda Statistika. Edisi ke-5. Penerbit Tarsito-Bandung.
- Wiwiek Tyasningsih. 1996. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kandungan Bakteri dan Protein Pada Daging Sapi Yang Disimpan Pada Suhu Beku Lemari Es. Thesis. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Hal. 43 - 78.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pertumbuhan kuman *B. subtilis* pada media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi ditambah Pepton, dan Media Nutrient Agar

ULANGAN	JUMLAH KUMAN <i>B. SUBTILIS</i> /ML PADA MEDIA (dalam 1000)		
	ED	ED + P	NA
1	26.000 (7,41)	29.000 (7,46)	840.000 (8,92)
2	31.000 (7,49)	34.000 (7,53)	870.000 (8,93)
3	20.000 (7,30)	28.000 (7,45)	830.000 (8,91)
4	24.000 (7,38)	37.000 (7,57)	790.000 (8,90)
5	27.000 (7,43)	34.000 (7,53)	790.000 (8,90)
JUMLAH	128.000 (8,11)	162.000 (8,21)	4.120.000 (9,61)
RATAAN	25.600 (7,41)	32.400 (7,51)	824.000 (8,92)

(...) = Logaritma dari Jumlah:

ED = Ekstrak Daging, ED + P = Ekstrak Daging + Air Pepton NA = Nutrient Agar

ANALYSIS OF VARIANCE

ORDER DATA FOR: B:SUBTILIS LABEL: Daging

NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 3

ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	7,402	5
2	7,508	5
3	8,912	5
GRAND MEAN	7,941	15

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
BETWEEN	7.104	2	3.552	1391.172	1.000E-14
WITHIN	.031	12	2.5533E-03		
TOTAL	7.135	14			

Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ berarti H_1 diterima ($P < 0,05$) = Terdapat perbedaan antar perlakuan

Tabel Beda Nyata Terkecil *Bacillus subtilis*

Perlakuan	ED	ED + P	NA
Rata-rata	7,402	7,502	8,912
ED	7,402	0,10*	1,510*
ED + P	7,508	-	1,404*

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5 \% &= t(0,05)(db \text{ sisa}) \times \sqrt{2XKTS/n} \\
 &= 2,179 \times 0,03215 \\
 &= 0,07
 \end{aligned}$$

* = Terdapat perbedaan antara NA dengan ED dan ED + P, serta antara ED dengan ED + P. NA lebih subur dari ED dan ED + P

Lampiran 2. Pertumbuhan kuman *S. aureus* pada media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi ditambah Pepton, dan Media Nutrient Agar

ULANGAN	JUMLAH KUMAN <i>S. AUREUS</i> /ML PADA MEDIA (dalam 1000)		
	ED	ED + P	NA
1	97.000 (7,99)	101.000 (8,00)	103.000 (8,01)
2	106.000 (8,03)	89.000 (7,95)	107.000 (8,03)
3	111.000 (8,05)	100.000 (8,00)	100.000 (8,00)
4	103.000 (8,01)	76.000 (7,88)	103.000 (8,01)
5	106.000 (8,03)	92.000 (7,96)	95.000 (7,98)
JUMLAH	523.000 (8,72)	458.000 (8,66)	508.000 (8,71)
RATAAN	104.600 (8,02)	91.600 (7,96)	101.600 (8,01)

(...) = Logaritma dari jumlah

ED = Ekstrak Daging, ED + P = Ekstrak Daging + Air Pepton NA = Nutrient Agar

----- ANALYSIS OF VARIANCE -----

HEADER DATA FOR: B:AUREUS LABEL: daging
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 3

ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	8.022	5
2	7.958	5
3	8.006	5
GRAND MEAN	7.995	15

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
BETWEEN	.011	2	5.5467E-03	5.089	.0251
WITHIN	.013	12	1.0900E-03		
TOTAL	.024	14			

Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ berarti H_1 diterima ($P < 0,05$) = Terdapat antar perlakuan

Tabel Beda Nyata Terkecil *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	ED	ED + P	NA
Rata-rata	8,022	7,958	8,006
ED	8,002	1,064*	0,016
ED + P	7,958	-	1,048†

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5 \% &= t(0,05)(\text{db sisa}) \times \sqrt{2\text{XKTS}/n} \\
 &= 2,179 \times 0,0208166 \\
 &= 0,0454
 \end{aligned}$$

* = Terdapat perbedaan antara ED dengan ED + P dan ED + P dengan NA.

Lampiran 3. Pertumbuhan kuman *E. coli* pada media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi ditambah Pepton, dan Media Nutrient Agar

ULANGAN	JUMLAH KUMAN <i>E. COLI</i> /ML PADA MEDIA		
	ED	ED + P	NA
1	130.000 (8,11)	121.000 (8,08)	23.000 (7,36)
2	119.000 (8,08)	124.000 (8,09)	37.000 (7,57)
3	143.000 (8,16)	128.000 (8,10)	24.000 (7,38)
4	119.000 (8,08)	116.000 (8,06)	33.000 (7,52)
5	126.000 (8,10)	94.000 (7,97)	45.000 (7,65)
JUMLAH	637.000 (8,80)	588.000 (8,77)	162.000 (8,21)
RATAAN	127.400 (8,11)	116.600 (8,06)	32.400 (7,51)

(...) = Logaritma dari jumlah

ED = Ekstrak Daging, ED + P = Ekstrak Daging + Air Pepton NA = Nutrient Agar

----- ANALYSIS OF VARIANCE -----

HEADER DATA FOR: B:COLI LABEL:
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 3

ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	8.106	5
2	8.060	5
3	7.496	5
GRAND MEAN	7.887	15

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
BETWEEN	1.154	2	.577	89.864	6.011E-08
WITHIN	.077	12	6.4200E-03		
TOTAL	1.231	14			

Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ berarti H_1 diterima ($P < 0,05$) = Terdapat perbedaan antar perlakuan

Tabel Beda Nyata Terkecil *Escherichia coli*

Perlakuan		ED	ED + P	NA
	Rata-rata	8,106	8,060	7,496
ED	8,106	-	0,046	0,610*
ED + P	8,060		-	0,564*

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5 \% &= t(0,05)(\text{db sisa}) \times \sqrt{2 \times \text{KTS} / n} \\
 &= 2,179 \times 0,050675 \\
 &= 0,1104
 \end{aligned}$$

* = Terdapat perbedaan antara NA dengan ED dan ED + P, ED dan ED + P lebih subur dari NA

Lampiran 4. Pertumbuhan kuman *P. aeruginosa* pada media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi ditambah Pepton, dan Media Nutrient Agar

ULANGAN	JUMLAH KUMAN <i>P. AERUGINOSA</i> /ML PADA MEDIA (dalam 1000)		
	ED	ED + P	NA
1	38.000 (7,58)	22.000 (7,34)	27.000 (7,43)
2	31.000 (7,49)	21.000 (7,32)	27.000 (7,43)
3	26.000 (7,41)	12.800 (7,10)	20.000 (7,30)
4	27.000 (7,43)	17.400 (7,24)	22.000 (7,34)
5	29.000 (7,46)	24.000 (7,38)	29.000 (7,46)
JUMLAH	151.000 (8,18)	97.200 (7,99)	125.000 (8,10)
RATAAN	30.200 (7,48)	19.440 (7,29)	25.000 (7,40)

(...) = Logaritma dari jumlah

ED = Ekstrak Daging, ED + P = Ekstrak Daging + Air Pepton NA = Nutrient Agar

----- ANALYSIS OF VARIANCE -----

HEADER DATA FOR: B:PMONAS LABEL:
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 3

ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	7.474	5
2	7.276	5
3	7.392	5

GRAND MEAN	7.381	15
------------	-------	----

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
BETWEEN	.099	2	.049	0.944	9.920E-03
WITHIN	.086	12	7.1567E-03		
TOTAL	.184	14			

Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ berarti H_1 diterima ($P < 0,05$) = Terdapat antar perlakuan

Tabel Beda Nyata Terkecil *Pseudomonas aeruginosa*

Perlakuan	ED	ED + P	NA
Rata-rata	7,474	7,276	7,392
ED	7,474	0,198*	0,082
ED + P	7,276	-	0,116

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5 \% &= t(0,05)(\text{db sisa}) \times \sqrt{2 \times \text{KTS} / n} \\
 &= 2,179 \times 0,0534 \\
 &= 0,1163
 \end{aligned}$$

* = Terdapat perbedaan antara ED dengan ED + P, ED lebih subur dari ED + P.

Lampiran 5. Ukuran Diameter Koloni *B. subtilis* yang Tumbuh pada Media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi Ditambah Pepton, dan Media Nutrient Agar

ULANGAN	DIAMETER KOLONI KUMAN <i>B. SUBTILIS</i> /ML PADA MEDIA		
	ED	ED + P	NA
1	1,80	1,65	5,40
2	1,85	1,90	5,65
3	2,20	1,80	5,10
4	1,95	1,90	5,90
5	1,60	2,05	5,85
JUMLAH	9,40	9,30	27,90
RATAAN	1,88	1,86	5,58

ED = Ekstrak Daging, ED + P = Ekstrak Daging + Air Pepton NA = Nutrient Agar

----- ANALYSIS OF VARIANCE -----

HEADER DATA FOR: B:B1 LABEL: subtilis
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 3

ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	1.880	5
2	1.860	5
3	5.580	5
GRAND MEAN	3.107	15

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
BETWEEN	45.881	2	22.941	380.758	1.384E-11
WITHIN	.723	12	.060		
TOTAL	46.604	14			

Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ berarti H_1 diterima ($P < 0,05$) = Terdapat antar perlakuan

Tabel Beda Nyata Terkecil *E. subtilis*

Perlakuan	ED	ED + P	NA
Rata-rata	1,88	1,86	5,58
ED	1,88	0,02	3,70*
ED + P	1,86		3,72*

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5 \% &= t(0,05)(\text{db sisa}) \times \sqrt{2\text{XKTS}/n} \\
 &= 2,179 \times 0,1549 \\
 &= 0,3376
 \end{aligned}$$

* = Terdapat perbedaan antara NA dengan ED dan ED + P, NA lebih subur dari ED dan ED + P

Lampiran 6. Ukuran Diameter Koloni *S. aureus* yang Tumbuh pada Media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi Ditambah Pepton, dan Media Nutrient Agar

ULANGAN	DIAMETER KOLONI KUMAN <i>S. AUREUS</i> /ML PADA MEDIA		
	ED	ED + P	NA
1	0,80	0,65	1,10
2	1,05	0,70	1,05
3	0,95	0,80	0,85
4	0,95	0,70	0,90
5	0,85	0,85	1,00
JUMLAH	4,60	3,70	4,90
RATAAN	0,92	0,74	0,98

ED = Ekstrak Daging, ED + P = Ekstrak Daging + Air Pepton NA = Nutrient Agar

----- ANALYSIS OF VARIANCE -----

HEADER DATA FOR: B:S1 LABEL: AUREUS
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 3

ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	.920	5
2	.740	5
3	.980	5
GRAND MEAN	.880	15

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
BETWEEN	.156	2	.078	8.667	4.687E-03
WITHIN	.108	12	9.0000E-03		
TOTAL	.264	14			

Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ berarti H_1 diterima ($P < 0,05$) = Terdapat antar perlakuan

Tabel Beda Nyata Terkecil *S. aureus*

Perlakuan	ED	ED + P	NA
Rata-rata	0,92	0,74	0,98
ED	0,92	-	0,06
ED + P	0,74	-	0,24*

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5 \% &= t(0,05)(\text{db sisa}) \times \sqrt{2\text{XKTS}/n} \\
 &= 2,179 \times 0,06 \\
 &= 0,1307
 \end{aligned}$$

* = Terdapat perbedaan antara NA dengan ED + P. NA lebih subur dari ED + P

Lampiran 7. Ukuran Diameter Koloni *E. coli* yang Tumbuh pada Media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi Ditambah Pepton, dan Media Nutrient Agar

ULANGAN	DIAMETER KOLONI KUMAN <i>E. COLI</i> /ML PADA MEDIA		
	ED	ED + P	NA
1	2,15	2,25	2,40
2	1,95	2,10	2,55
3	2,00	2,20	2,25
4	2,15	2,10	2,40
5	1,90	2,25	2,35
JUMLAH	10,15	10,90	11,95
RATAAN	2,03	2,18	2,39

ED = Ekstrak Daging, ED + P = Ekstrak Daging + Air Pepton NA = Nutrient Agar

----- ANALYSIS OF VARIANCE -----

HEADER DATA FOR: B:E1 LABEL: COLI
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 3

ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	2.030	5
2	2.180	5
3	2.390	5
GRAND MEAN	2.200	15

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
BETWEEN	.327	2	.164	15.951	4.170E-04
WITHIN	.123	12	.010		
TOTAL	.450	14			

Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ berarti H_1 diterima ($P < 0,05$) = Terdapat antar perlakuan

Tabel Beda Nyata Terkecil *E. coli*

Perlakuan	ED	ED + P	NA
Rata-rata	2,03	2,18	2,39
ED	2,03	-	0,36*
ED + P	2,18	-	0,21*

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5 \% &= t(0,05)(\text{db sisa}) \times \sqrt{2 \times \text{KTS}^2 / n} \\
 &= 2,179 \times 0,0632 \\
 &= 0,1378
 \end{aligned}$$

* = Terdapat perbedaan antara NA dengan ED dan ED + P, maupun ED dengan ED + P, NA lebih subur dari ED dan ED + P

Lampiran 8. Ukuran Diameter Koloni *P. aeruginosa* yang Tumbuh pada Media Ekstrak Daging Sapi, Ekstrak Daging Sapi Ditambah Pepton, dan Media Nutrient Agar

ULANGAN	DIAMETER KOLONI KUMAN <i>P. AERUGINOSA</i> /ML PADA MEDIA		
	ED	ED + P	NA
1	2,00	1,80	1,05
2	1,90	1,80	0,75
3	1,90	1,70	1,10
4	1,95	1,85	0,80
5	1,85	1,75	0,80
JUMLAH	9,60	8,90	4,50
RATAAN	1,92	1,78	0,90

----- ANALYSIS OF VARIANCE -----

HEADER DATA FOR: B:P1 LABEL: AERUGINOSA
NUMBER OF CASES: 5 NUMBER OF VARIABLES: 3

ONE-WAY ANOVA

GROUP	MEAN	N
1	1.920	5
2	1.780	5
3	.900	5
GRAND MEAN	1.533	15

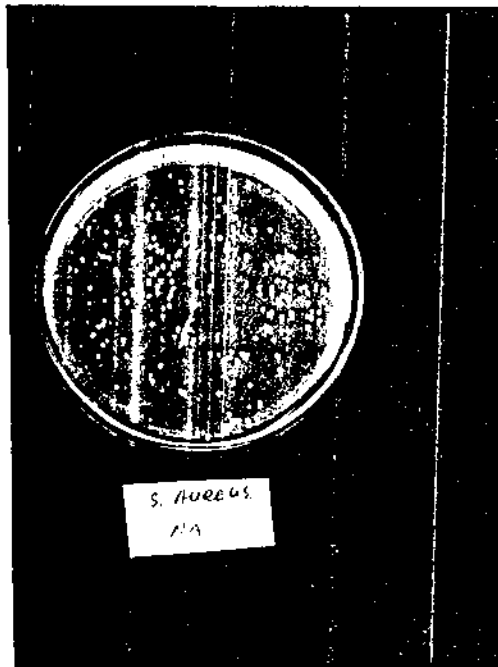
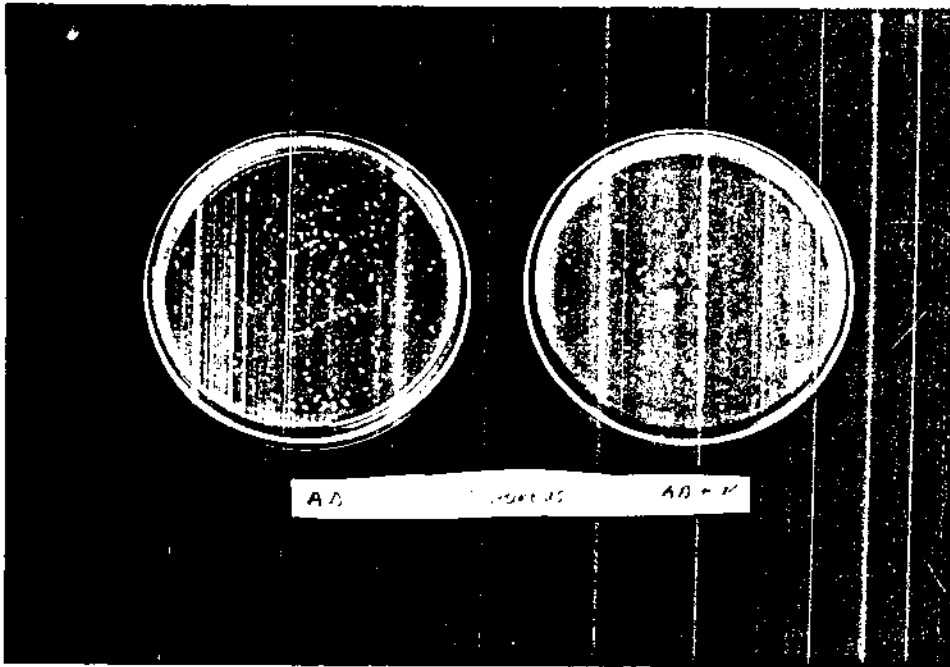
SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
BETWEEN	3.057	2	1.529	140.031	4.811E-09
WITHIN	.131	12	.011		
TOTAL	3.188	14			

Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ berarti H_1 diterima ($P < 0,05$) = Terdapat antar perlakuan

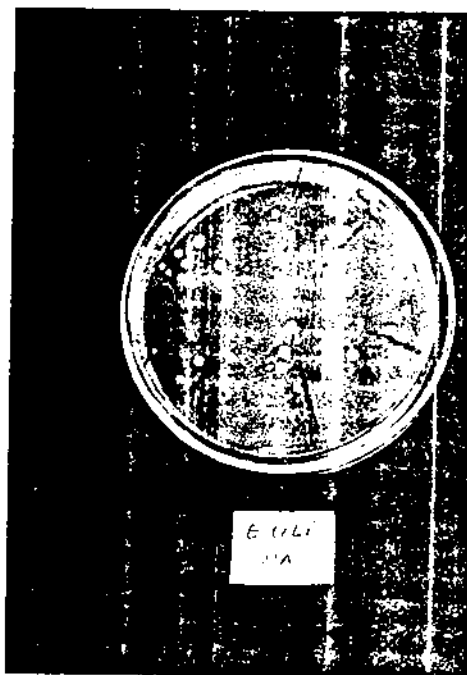
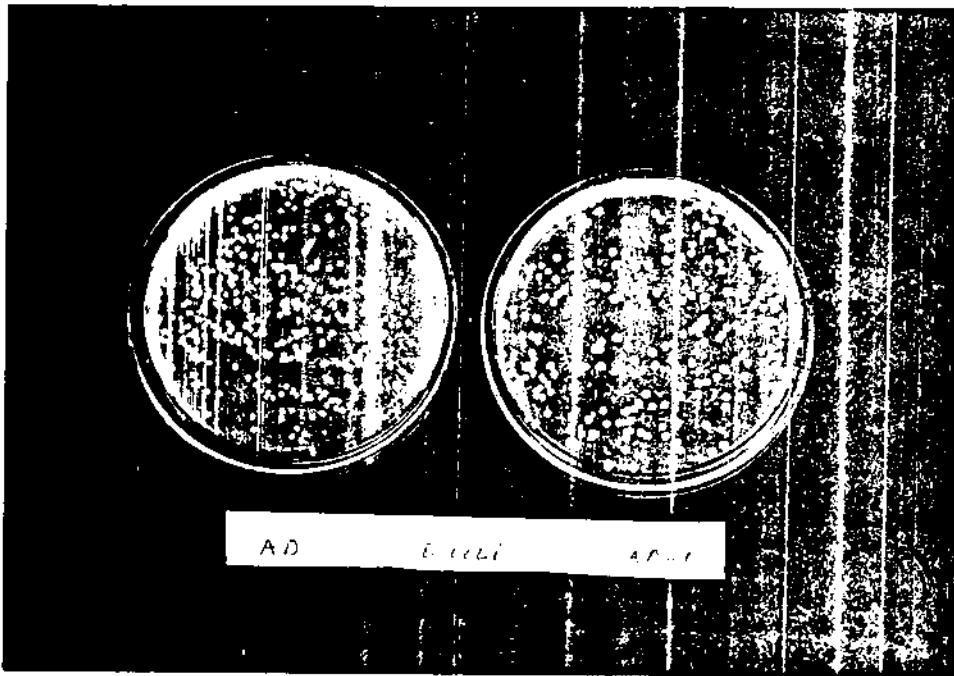
Tabel Beda Nyata Terkecil *F. seruginosa*

Perlakuan		ED	ED + P	NA
	Rata-rata	1,92	1,78	0,90
AD	1,92	-	0,14	0,02
AD + P	1,78		-	0,12

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5 \% &= t(0,05)(\text{db sisa}) \times \sqrt{2\text{XKTS}/n} \\
 &= 2,179 \times 0,2098 \\
 &= 0,4571
 \end{aligned}$$



Gambar 1. Pertumbuhan Kuman *Staphylococcus aureus* pada Media Ekstrak Daging Sapi Dibanding Dengan Nutrient Agar. Tampak Juga Warna Media Ekstrak Daging Sapi Yang Lebih Keruh



Gambar 2. Pertumbuhan Kuman *Escherichia coli* pada Media Ekstrak Daging Sapi Dibanding Dengan Nutrient Agar. Tampak Juga Warna Media Ekstrak Daging Sapi Yang Lebih Keruh