

SKRIPSI

**KADAR TRIPTOFAN PADA BAKTERI *SALMONELLA*
PULLORUM YANG DIPUPUK DALAM
MEDIUM GLUKOSA 2%**



OLEH :

Muharti Rahayu

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 5**

**KADAR TRIPTOFAN PADA BAKTERI *SALMONELLA PULLORUM*
YANG DIPUPUK DALAM MEDIUM GLUKOSA 2%**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh

MUHARTI RAHAYU

068911581

Menyetujui

Komisi Pembimbing



(Bambang Sasongko, M.S., Drh)

Pembimbing Pertama



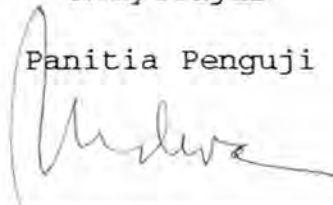
(Midian Naibaho, M.S., Drh)

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh -
sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang
lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi
untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui

Panitia Penguji



(Dewa Ketut Meles , M.S.,Drh)

K e t u a



(Chusnan Effendi, M.S.,Drh)

Anggota

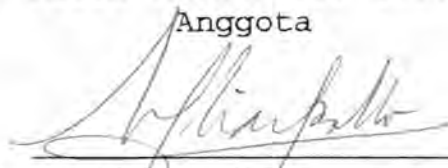


(Rr. Ratih Ratnasari, S.U.,Drh)

Anggota



(E. Bambang Sasongko T, M.S.,Drh)



(Midian Naibaho, M.S.,Drh)

Surabaya, 10 Agustus 1995

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

D e k a n ,



(Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S.,Drh)

NIP. 130 350 730

UCAPAN TERIMA KASIH

Mengucapkan puji syukur kehadiran Allah S.W.T. atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Dengan rasa hormat, penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Bapak Bambang Sasongko T., M.S., Drh. (pembimbing pertama) dan Bapak Midian Naibaho, M.S., Drh. (pembimbing kedua) yang telah memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang sangat berguna dalam penyusunan skripsi ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Prof.Dr.H.Rochiman Sasmita, M.S.,Drh. (Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga), Bapak Yusuf Syah, Drs. (Dosen Laboratorium Kimia FMIPA), Bapak Soeprapto, Dr. (Dosen Laboratorium Biokimia FKU) dan seluruh staf dan karyawan Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, atas sarana dan bantuan yang diberikan dalam melaksanakan penelitian ini.

Kepada ayah dan ibu tercinta serta saudara-saudaraku terima kasih penulis sampaikan atas dorongan semangat dan doa restunya.

Kepada teman-temanku Selly, Umi, Dini, Muri, Yeye, Ika, Suci, Memes dan Luki, yang telah memberikan bantuan moril dan perhatian dalam suka maupun duka selama penelitian sampai penulisan skripsi ini penulis sampaikan ucapan terima kasih.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan serta perhatiannya, penulis juga menyampaikan banyak terima kasih.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih belum sempurna, maka kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan tulisan ini untuk peningkatan penulisan-penulisan berikutnya.

Semoga segala bantuan dan kebaikan yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan yang berlipat ganda dari Allah S.W.T., Amien.

KADAR TRIPTOFAN PADA BAKTERI *SALMONELLA PULLORUM*
YANG DIPUPUK DALAM MEDIUM GLUKOSA 2%

MUHARTI RAHAYU

INTISARI

Telah dilakukan penelitian tentang kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2%. Jumlah bakteri dalam tiap-tiap sampel adalah 12×10^8 ml yang dapat dilihat pada tabung Mc Farland's IV.

Dalam metabolisme sel bakteri dibutuhkan triptofan. Sesuai dengan sifat biokimiawi bakteri *Salmonella pullorum* yang memiliki uji indol negatif atau bakteri *Salmonella pullorum* tidak memecah triptofan.

Perbenihan yang digunakan dalam penelitian ini dengan formula glukosa, pepton, NaCl, indikator phenol red. Setelah hasil pupukan dipanen disesuaikan dengan kekeruhan tabung-tabung Mc Farland's. Larutan bakteri yang mengandung 12×10^8 per ml dipecah dengan BIOSONIC dengan frekuensi 60.000 Hz selama 15 menit dan diperiksa dengan metode spektrofotometer UV-VIS. Data yang diperoleh dihitung dengan rata-rata dan simpangan baku. Hasil penelitian menunjukkan kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2% adalah $4,3665 \pm 0,4474$ mg/l.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	iii
INTISARI	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR GAMBAR	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Permasalahan	1
I.2. Perumusan Masalah	2
I.3. Tujuan Penelitian	2
I.4. Manfaat Penelitian	2
I.5. Hipotesis Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1. <i>Salmonella pullorum</i>	4
II.1.1. Morfologi	5
II.1.2. Pemupukan dan Uji Biokimiawi	5
II.1.3. Daya Tahan Hidup Bakteri	6
II.1.4. Patogenesis	7
II.1.5. Gejala Klinis dan Perubahan Patologis Anatomis	8
II.1.6. Diagnosa Penyakit	9
II.2. Tinjauan Triptofan	11
II.3. Spektrofotometri UV-VIS	13
BAB III. MATERI DAN METODE	15
III.1. Tempat dan Waktu Penelitian	15
III.2. Materi	15

	Halaman
III.2.1. Bahan	15
III.2.2. Alat	15
III.3. Metode Penelitian	15
III.3.1. Sampel	15
III.3.2. Pembuatan Medium Glukosa 2%	16
III.3.3. Pemupukan Sampel, Uji Biokimiawi dan Perhitungan Bakteri <i>Salmonella pullorum</i>	16
III.3.4. Pemeriksaan Kadar Triptofan pada Bakteri <i>Salmonella pullorum</i> yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2% dengan Menggunakan Alat Spektrofotometer UU-VIS	17
III.3.5. Pengukuran Kadar Triptofan pada Bakteri <i>Salmonella pullorum</i> yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2% ...	17
III.3.6. Pemeriksaan Kadar Triptofan pada Medium Glukosa 2% dengan Menggunakan Alat Spektrofotometer UU-VIS..	18
III.3.7. Pengukuran Kadar Triptofan pada Medium Glukosa 2%	18
III.3.8. Perhitungan Kadar Triptofan	19
III.3.9. Peubah	19
BAB IV. HASIL PENELITIAN	20
BAB V. PEMBAHASAN	22
BAB VI. KESIMPULAN	24
VI.1. Kesimpulan	24
VI.2. Saran	24
RINGKASAN	25
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	29

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Asam-asam Amino Essensial dan Non Essensial ...	12
2.	Perbandingan Kadar Triptofan Bakteri <i>Salmonella pullorum</i> dalam glukosa 2% (12×10^8 /ml) dengan Kadar Triptofan Medium Glukosa	20

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Besarnya Panjang Gelombang dan Absorbansi Triptofan pada Bakteri <i>Salmonella pullorum</i> yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2%	30
2. Besarnya Panjang Gelombang dan Absorbansi Triptofan pada Medium Glukosa 2%	31
3. Penentuan Persamaan Kurva Standar Triptofan pada Bakteri <i>Salmonella pullorum</i> yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2% dari Beberapa Konsentrasi	32
4. Penentuan Persamaan Kurva Standar Triptofan pada Medium Glukosa 2% dari Beberapa Konsentrasi	34
5. Contoh Perhitungan Kadar Triptofan	36
6. Kadar Triptofan pada Bakteri <i>Salmonella pullorum</i> yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2%	37
7. Kadar Triptofan pada Medium Glukosa 2%	38
8. Hasil Perhitungan Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Triptofan pada Bakteri <i>Salmonella pullorum</i> yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2%	39
9. Hasil Perhitungan Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Triptofan pada Medium Glukosa 2%	40
10. MC. Farland's Neplometer Standards	41

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Rumus Bangun Triptofan	12
2.	Siklus Asam Trikarboksilat	13
3.	Katabolisme Karbohidrat, Protein dan Lemak, Menjadi Asetil Ko-A dan Peranannya dalam Siklus Asam Sitrat	42
4.	Peranan Siklus Asam Sitrat pada Glukoneogenesis.	43
5.	Alat Spektrofotometer UU-VIS HITACHI-557	44
6.	Grafik Konsentrasi dan Absorpsi Larutan Tripto- fan Baku pada Bakteri <i>Salmonella pullorum</i> yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2%	45
7.	Grafik Konsentrasi dan Absorpsi Larutan Tripto- fan Baku pada Medium Glukosa 2%	46

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Permasalahan

Beberapa bentuk kehidupan (misalnya tumbuh-tumbuhan dan banyak bakteri) dapat membentuk semua 20 asam amino dari zat-zat antara amfibolik. Tumbuh-tumbuhan dan bakteri mensintesis asam amino dari glukosa tambah amonia (Harper, 1983).

Pada hewan sintesis protein untuk jaringan tubuh membutuhkan 20 asam amino yang berbeda yang terdapat dalam protein tubuh. Asam amino yang diperlukan untuk sintesis protein dan tidak dapat disintesis sendiri oleh organisme itu harus terdapat dalam makanannya disebut asam-asam amino essensial, sedangkan yang dapat disintesis sendiri oleh organisme disebut asam-asam amino tak essensial. Patut diperhatikan bahwa asam amino dapat essensial untuk satu bentuk kehidupan tetapi tidak essensial untuk bentuk yang lainnya. Asam amino yang essensial tergantung kepada spesies hewan dan perbedaan individu.

Dari segolongan asam-asam amino essensial tadi terdapat salah satu asam amino kritis yaitu triptofan yang membentuk asetil-KOA tanpa membuat piruvat terlebih dahulu dan berperan dalam siklus sitrat.

Dewasa ini kemajuan teknologi telah berhasil membuat triptofan murni dengan salah satu metode enzytotik menggunakan indol yang menghasilkan L-triptofan.

Bakteri *Salmonella* adalah bakteri yang bersifat gram negatif, pada umumnya dapat juga tumbuh baik pada pembenihan nutrien agar. *Salmonella* dapat juga tumbuh pada pembenihan buatan sederhana yang mengandung glukosa dan garam-garam amonium, walaupun beberapa strain membutuhkan tambahan triptofan (Soltys, 1963).

Bakteri *Salmonella pullorum* adalah bakteri yang bersifat aerob atau fakultatif anaerob. Bakteri tersebut memiliki uji indol negatif yang mengandung arti bakteri *Salmonella pullorum* tidak memecah triptofan.

Mengingat hal tersebut, maka dilakukan penelitian tentang kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2%.

I.2. Perumusan Masalah

Bertitik tolak dari permasalahan di atas maka apakah bakteri *Salmonella pullorum* membutuhkan triptofan dari medium glukosa 2% untuk kehidupannya.

I.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* untuk kehidupannya.

I.4. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2%.

I.5. Hipotesis Penelitian

Dalam penelitian ini dikemukakan hipotesis bahwa bakteri *Salmonella pullorum* membutuhkan triptofan dari medium glukosa 2% untuk kehidupannya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. *Salmonella pullorum*

Bakteri *Salmonella pullorum* menyebabkan penyakit infeksius yang tersebar luas dan selalu berjalan akut pada anak-anak ayam dan juga ayam-ayam dewasa yang umumnya berjalan kronis (Seneviratna, 1968). Penyakit ini juga disebut sebagai penyakit "*Salmonella pullorum infection*". Baccillary white diarrhea" dan di Indonesia dikenal dengan penyakit tifus ayam atau diare putih anak ayam atau penyakit berak kapur (Ressang, 1984).

Bakteri *Salmonella* ini ditemukan oleh RETTGER di Amerika pada tahun 1899. Pada anak ayam dengan tanda-tanda septikemia akut dan bersifat fatal. Selain di Amerika Serikat penyakit ini juga menyebar di Australia pada tahun 1921 kemudian menyusul di Jepang pada tahun 1923. Sejak berakhirnya perang Dunia I penyakit pullorum tersebar luas di Benua Eropa, Amerika dan Asia (Hofstad, 1972; Hungerford, 1969).

Selain menyerang ayam penyakit pullorum juga menyerang kalkun, burung gereja, itik, angsa, burung puyuh, burung kuau dan mamalia seperti kelinci, rubah, juga manusia dapat terserang penyakit pullorum (Sastro Amidjojo, 1970).

Menurut cara penularannya genus *Salmonella* dapat terjadi secara oral bersama makanan dan minuman, aerogen melalui alat penetas, bulu, debu, kotoran hewan tertular dan alat potong paruh. Cara lain penularan bakteri *Salmonella*

pullorum adalah kongenital melalui telur atau transovarial (Hofstad, 1972). Selain melalui mulut, hidung dan secara kongenital bakteri *Salmonella pullorum* dapat masuk tubuh melalui konjungtiva, goresan kulit, kloaka, maupun kontak langsung dari penderita (Merchan dan Packer, 1971).

II.1.1. Morfologi

Bakteri *Salmonella pullorum* yaitu bakteri yang berbentuk batang, tidak bergerak, tidak berspora, mempunyai ukuran panjang 1 sampai 2,5 mikron dan lebar 0,3 sampai 0,5 mikron (Carter, 1973; Cowan dan Steels, 1975).

Bakteri *Salmonella pullorum* tumbuh optimum pada temperatur 37°C dan bersifat gram negatif. Pada pupukan membentuk koloni yang terpisah-pisah, jernih dan tembus cahaya (Hofstad, 1972; Hagan dan Brunner, 1981).

II.1.2. Penupukan dan Uji Biokimiawi

Bakteri *Salmonella pullorum* tumbuh pada media semisolid yang merupakan garis putih bekas tusukan, bersifat *aerob* atau *fakultatif anaerob*. Pada pembenihan Beef Extract Agar dengan pH 7 sampai 7,2 bakteri *Salmonella pullorum* tumbuh berupa koloni yang terpisah-pisah. Jernih dan tembus cahaya. Pada *selenit F Broth* bakteri *Salmonella pullorum* tumbuh subur. Media selektif bakteri *Salmonella pullorum* untuk membedakan dengan kuman entero bakteri yang lain adalah *Salmonella pullorum Agar*, *Endo Agar*, *Mac Conkey Agar* dan *Brilliant Green Agar*. Pada media *Triple Sugar Iron Agar*

(TSIA) bersifat alkalis ditandai dengan warna merah di daerah *Slant* (bagian atas) dan asam ditandai warna kuning di daerah *Butt* (bagian bawah). Bakteri *Salmonella* juga membentuk gas ditandai dengan terangkatnya media, juga membentuk gas H_2S yang ditandai warna kehitaman. Pada uji indol bakteri *Salmonella pullorum* memberikan hasil negatif (Hagan dan Brunner, 1981; Jackson dan Simmon, 1981).

Bakteri *Salmonella pullorum* tidak meragikan laktosa membentuk asam dan gas dari glukosa dan manitol. Pada uji (MR-VP) memberikan hasil negatif. Pada uji-uji selanjutnya menunjukkan hasil urea negatif, uji sitrat dan nitrat pada umumnya negatif dan beberapa strain positif (Carter, 1973; Wilding, 1984).

II.1.3. Daya Tahan Hidup Bakteri

Daya tahan hidup *Salmonella pullorum* bervariasi tergantung dari keadaan dan kondisi lingkungan. Pada kuning telur akan tumbuh cepat pada temperatur $20^{\circ}C$, pada temperatur $10^{\circ}C$ masih tetap tumbuh setelah disimpan selama dua minggu dan pada temperatur $2^{\circ}C$ populasi bakteri yang tumbuh semakin berkurang. Telur yang direbus dalam air mendidih selama lima menit ternyata dapat membunuh bakteri di dalamnya (Hofstad, 1972).

Bakteri *Salmonella pullorum* dapat tahan selama delapan bulan pada kain kering dengan temperatur kamar. Pada kotoran di tanah dengan temperatur $26^{\circ}C$ sampai $30^{\circ}C$, bakteri

Salmonella pullorum masih bersifat ganas sampai satu tahun (Hungerford, 1969).

Di dalam kandang bakteri *Salmonella pullorum* dapat tahan selama 20 sampai 35 hari pada musim panas dan pada dingin dapat tahan hidup selama 128 sampai 184 hari (Hungerford, 1969).

Di dalam litter yang lama menyebabkan bakteri *Salmonella pullorum* dapat tahan hidup selama tiga minggu dan pada litter yang baru dapat tahan hidup selama 11 minggu. Pemanasan secara langsung dengan temperatur 58°C dapat menyebabkan bakteri *Salmonella pullorum* mati (Loken, 1974).

II.1.4. Patogenesis

Bakteri *Salmonella pullorum* secara peroral masuk melalui mulut menuju alat pencernaan, menembus dinding usus halus dan masuk aliran darah sehingga mengakibatkan septikemia kemudian sampai ke ovarium dan menetap di ovarium.

Pada usus bakteri *Salmonella pullorum* dapat merusak dan mengiritasi mukosa sehingga mengakibatkan gerakan rangsangan usus meningkat dan mengganggu penyerapan sari-sari makanan. Bakteri ini jika telah sampai ke hati mengakibatkan kebengkakan yang menekan kantong empedu sehingga cairan empedu masuk ke dalam usus dan bercampur dengan asam urat di kloaka yang mengakibatkan diare putih.

Bakteri *Salmonella pullorum* secara inhalasi menuju paru-paru yang menyebabkan kerusakan dan sulit bernafas,

kemudian ikut aliran darah dan sampai di ovarium (Hofstad, 1972; Gordon, 1977).

II.1.5. Gejala Klinis dan Perubahan Patologi Anatomis

Bakteri *Salmonella pullorum* menimbulkan gejala klinis dan perubahan patologis anatomis yang berbeda-beda pada anak ayam, ayam dara dan ayam dewasa.

Gejala klinis pada anak ayam biasanya bersifat akut dan menunjukkan tanda-tanda nafsu makan menurun, mengantuk, sayap turun ke bawah dan diare putih yang mengotori sekitar kloaka. Di samping itu kelihatan lesu, lemah, merasa kehausan, mendekati dan bergerombol pada pemanas, diikuti kematian sekitar umur dua minggu dan pada ayam yang sedang mengeram dijumpai tiba-tiba mati (Biester dan Schwartz, 1965). Gejala klinis pada ayam dara yang menderita pullorum bersifat kronis menunjukkan tanda-tanda kepincangan, kelumpuhan, kekurusan, depresi dan pertumbuhan terhambat. Pada ayam yang sedang memproduksi umumnya tidak menunjukkan gejala klinis yang nyata tetapi pada bentuk kronis sering dijumpai produksi yang sangat menurun, depresi, kekurangan dan diare.

Penyakit pullorum pada anak ayam yang mati sehari menunjukkan perubahan patologis anatomis yang kurang jelas, kadang-kadang dijumpai pneumonis hemorrhagis, paru kekuningan dan hati yang membengkak. Pada ayam dara terjadi kerusakan paru yang merata disertai sarang-sarang nekrotik,

hati bengkak kekuningan sedikit hemorrhagis dan terdapat faki nekrotik, limpa bengkak dan anemis serta pada ginjal terdapat timbunan asam urat (Seneviratna, 1969). Pada saluran pencernaan terlihat caecum yang berisi cairan kental, proventrikulus terlihat adanya foki-foki nekrotik, dinding usus menebal yang disertai juga peritonitis. Pada jantung terdapat foki-foki nekrotik pada bagian apex yang menyebabkan otot jantung berbentuk abnormal dan kadang-kadang terjadi perikarditis (Cohrs, 1966).

Perubahan patologis anatomis pada ayam betina dewasa yang menderita penyakit pullorum pada umumnya sama dengan ayam dara. Pada ayam betina dewasa perubahan terdapat pada ovarium yang terlihat keriput, tidak bulat dan diisi masa kuning telur dengan konsistensi padat dan mengeju disertai warna kuning kecoklatan, kadang-kadang ovarium mempunyai tungkai yang panjang (Cohrs, 1966).

Perubahan patologis anatomis pada ayam jantan dewasa yang menderita penyakit Pullorum menunjukkan abses pada testis dan terjadi penebalan yang bersifat fibrous sehingga fungsi testis mengalami kemunduran. Selain pada testis juga terjadi pada vasa deferens (Biester dan Schwartz, 1965).

II.1.6. Diagnosa Penyakit

Untuk menentukan diagnosa terhadap penyakit Pullorum dengan melihat gejala klinis, perubahan patologis anatomis, isolasi dan identifikasi dan uji serologis. Uji serologis

dilakukan dengan cara : "standart tube agglutination", "stained antigen-rapid whole blood test" dan "rapid serum test".

Pada uji serologis dengan metode "standart tube agglutination" memerlukan serum darah ayam tersangka dan antigen *Salmonella pullorum* standart. Serum dan antigen yang dicampur sama banyak dalam tabung diinkubasi selama 20 jam pada temperatur 37°C. Reaksi positif terjadi apabila terdapat aglutinasi pada dasar tabung dan cairan di atasnya jernih. Reaksi negatif apabila cairan dalam tabung tetap keruh dan reaksi dubius apabila terjadi peralihan antara reaksi positif dan reaksi negatif (Biester dan Schwartz, 1965; Seneviratna, 1969).

Uji serologis dengan metode "stained antigen-rapid whole blood test" sering dilakukan karena sangat sederhana dan hasilnya cepat diketahui. Uji ini disebut juga "rapid agglutination test" atau "rapid test". Pada uji ini satu bagian darah ayam tersangka (0,2 ml) dicampur dengan 2 sampai 3 bagian antigen berwarna (0,5 ml). Pada gelas obyek dan digoyang-goyang sampai rata selama 2 menit. Reaksi positif apabila terjadi aglutinasi tidak lebih dari 1 menit, dubius apabila aglutinasi terjadi antara 1 sampai 2 menit dan negatif apabila campuran tetap homogen selama 2 menit (Seneviratna, 1969).

Uji serologis dengan metode "rapid serum test" dilakukan apabila uji "rapid whole blood test" hasilnya meragukan. Pada uji ini serum dari darah ayam tersangka satu tetes dicampur dengan antigen standart *Salmonella pullorum* satu tetes pada gelas obyek kemudian diaduk sampai rata. Reaksi positif apabila setelah beberapa detik terjadi aglutinasi dan reaksi negatif apabila tidak terjadi aglutinasi (Hofstad, 1972).

II.2. Tinjauan Triptofan

Triptofan merupakan diantara yang pertama diperlihatkan sebagai asam amino esensial dalam makanan dan terkenal karena variasi reaksi dan produk metabolistiknya.

Mutan *Neorospora*, bakteri *pseudomonas* dan isolasi metabolit triptofan dari urin dapat membuktikan bantuan bernilai dalam membuka seluk beluk metabolisme triptofan.

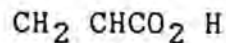
Pada banyak hewan perubahan triptofan menjadi asam nikotinat menyebabkan tidak diperlukannya suplai vitamin B6 dalam makanan. Pada hewan kelinci, tikus, anjing, babi, triptofan dapat secara penuh menggantikan vitamin B6 dalam makanan, pada manusia dan hewan lain triptofan meningkatkan ekskresi derivat asam nikotinat dalam urin.

Tabel 1. Asam-asam amino essensial dan non essensial

Essensial	Non essensial
Arginin	Alanin
Histidin	Asparagin
Isoleusin	Asam aspartat
Leusin	Sistin
Lisin	Asam glutamat
Metionin	Glutamin
Fenilalanin	Hidroksi prolin
Treonin	Serin
Valin	Tirosin
Triptofan	Glisin

Sumber : Harper, 1983.

Triptofan termasuk kelompok asam amino aromatik yang mengandung cincin benzena, yang disintesa dari rantai karbon alifalik.

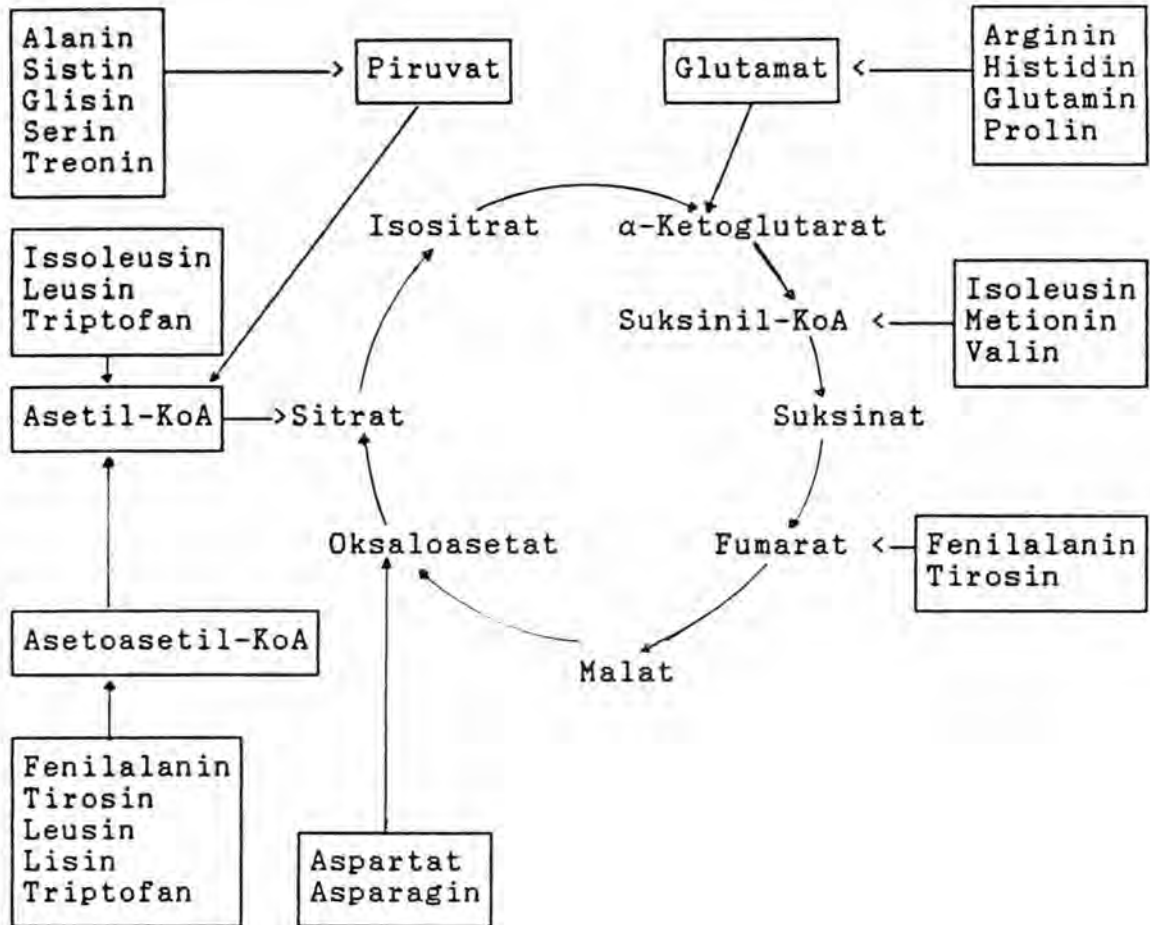


Gambar 1. Rumus bangun Triptofan

Sumber : Fessenden, 1989

Triptofan dalam siklus asam sitrat berperan langsung dalam pembentukan asetil-KoA. Bila asetil-KoA tidak ada maka

siklus asam sitrat akan terganggu dan menyebabkan metabolisme sel terganggu. Siklus asam sitrat dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini (Lehninger, 1985).



Gambar 2. Siklus Asam Trikarboksilat
Sumber : Lehninger, 1985.

II.3. Spektrofotometri UV-VIS

Kadar triptofan dalam sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan alat yang disebut Spektrofotometri UV-VIS.

Prinsip kerja spektrofotometri UV-VIS didasarkan kepada adanya interaksi antara molekul dengan radiasi elektromagnetik akan menyebabkan terjadinya elektronik berupa energi sebagai transisi antara dua tingkat energi dari molekul.

Dalam spektrofotometer UV-VIS ini terdapat dua daerah pengukuran yaitu daerah radiasi ultra violet dan radiasi sinar tampak (visible). Spektrum atau gambaran yang dikenal sebagai absorpsi terhadap panjang gelombang. Spektrum UV-VIS adalah suatu gambaran antara panjang gelombang radiasi terhadap intensitas absorpsi, yang ditunjukkan dalam bentuk grafik (Mulia dan Syahrani, 1990).

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan, Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penelitian ini dimulai pada 14 Nopember sampai 5 Desember 1993.

III.2. Materi

III.2.1. Bahan

Bahan untuk penelitian ini adalah bakteri *Salmonella pullorum*, Triptofan standar BHIA, glukosa, NaCl, pepton, aquades, NaOH 0,1 N, alkohol 70%, methylen blue, normal hexane.

III.2.2. Alat

Alat-alat yang dipergunakan dalam penelitian adalah Spektrofotometer UV-VIS Hitachi-557, centrifuge, corong pisa, ose, timbangan, pipet, inkubator, autoclave, labu ukur, cawan petri, termometer, lemari asam, erlemeyer, tabung centrifuge, tabung reaksi, alat-alat gelas.

III.3. Metode Penelitian

III.3.1. Sampel

Bakteri yang dipergunakan pada penelitian adalah *Salmonella pullorum* yang stoknya diperoleh dari Laboratorium Mamalia di PUSVETMA Surabaya dalam bentuk seed.

III.3.2. Pembuatan Medium Glukosa 2%

Terlebih dahulu membuat larutan pepton dengan menimbang 10 gr pepton ditambah 5 gr NaCl dan dilarutkan dalam 1000 ml aquades dengan pemanasan dan dilihat pada pH 7,4 - 7,6, kemudian disaring dan disterilisasikan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit.

Untuk membuat medium glukosa 2% dengan cara menimbang glukosa murni 2 gr dan ditambahkan 100 ml larutan pepton kemudian diberi beberapa tetes indikator phenol red.

III.3.3. Penupukan Sampel, Uji Biokimiawi dan Perhitungan Bakteri *Salmonella pullorum*

Seed bakteri *Salmonella pullorum* ditambahkan larutan NaCl fisiologis sebanyak 2 cc kemudian dibiakkan dalam media penyubur selenit F. Broth selama 18 jam pada suhu 37°C selanjutnya dibiakkan dalam media selektif SSA selama 24 jam pada suhu 37°C. Dilanjutkan dengan uji biokimiawi yang meliputi uji indol, uji TSIA, uji gula-gula, uji urea, uji nitrat, uji sitrat dan uji MR-VP.

Ke dalam masing-masing tabung reaksi 10 ml yang berisi glukosa 2% dipupuk bakteri *Salmonella pullorum* dan diinkubasi selama 18 sampai 24 jam pada suhu 37°C. Isi masing-masing tabung reaksi dituangkan ke dalam tabung centrifuge yang bervolume 10 ml, kemudian dicentrifuge dan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatannya dibuang kemudian ditambahkan NaCl fisiologis dan dicentrifuge kembali (diulang sebanyak 2 kali), selanjutnya ditambahkan NaOH 0,1 N sebanyak

25 ml dan dipecah dengan alat BIOSONIC dengan kecepatan 60.000 Hz selama 15 menit.

Jumlah bakteri dalam tiap-tiap sampel yang dipupuk pada medium glukosa 2% adalah 12×10^8 yang dapat dilihat pada tabung Mc.Farland's IV berdasarkan kekeruhannya.

III.3.4. Pemeriksaan Kadar Triptofan pada Bakteri *Salmonella pullorum* yang Dipupuk dalam Medium Glukosa 2% dengan Menggunakan Alat Spektrofotometer UV-VIS

Untuk menentukan kadar triptofan dalam sampel, terlebih dahulu dilakukan pengamatan terhadap spektrum dan gambaran triptofan murni dalam beberapa kadar. Caranya dengan membuat larutan induk triptofan 200 ppm. Seberat 100 mg triptofan baku ditimbang dan dilarutkan dalam larutan blanko NaOH 0,1 N sampai 500 ml.

Untuk menentukan panjang gelombang maksimumnya, dipipet 1 ml larutan triptofan 200 ppm ke dalam labu takar 25 ml, diencerkan dengan larutan NaOH 0,1 N sampai garis tanda dan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS.

Pembuatan larutan standart triptofan 1,6; 2,4; 3,2; 4,0; 4,8 dan 6,4 ppm. Ke dalam enam buah labu takar 25 ml dimasukkan larutan induk triptofan 200 ppm masing-masing sebanyak 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60 dan 0,80 ml, kemudian diencerkan dengan larutan NaOH 0,1 N sampai garis tanda.

III.3.5. Pengukuran Kadar Triptofan pada Bakteri *Salmonella pullorum* yang Dipupuk dalam Medium Glukosa 2%

Setiap larutan sampel dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambah 5 ml larutan n-hexane dan dikocak selama

15 menit, setelah itu diuapkan dalam lemari asam pada temperatur kamar. Zat hasil penguapan dilarutkan dalam NaOH 0,1 N sampai 25 ml. Sampel dipipet 5 ml diencerkan dengan NaOH sampai 25 ml (pengenceran 5 kali) dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum.

III.3.6. Pemeriksaan Kadar Triptofan dalam Medium Glukosa 2% dengan Menggunakan Alat Spektrofotometer UV-VIS

Dengan membuat larutan induk triptofan 200 ppm. Triptofan baku ditimbang 100 mg kemudian dilarutkan dalam larutan blangko : NaCl, glukosa, phenol red dan aquades sampai 500 ml.

Menentukan panjang gelombang maksimum dengan memipet 1 ml larutan induk triptofan 200 ppm ke dalam labu takar 25 ml dan diencerkan dengan aquades sampai garis tanda kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-VIS.

Larutan standart triptofan 1,6; 2,4; 3,2; 4,0; 4,8 dan 6,4 ppm. Ke dalam enam buah labu takar 25 ml dimasukkan larutan induk triptofan 200 ppm masing-masing sebanyak 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60 dan 0,80 ml. Kemudian diencerkan dengan aquades sampai garis tanda.

III.3.7. Pengukuran Kadar Triptofan dalam Medium Glukosa 2%

Setiap larutan sampel dipipet 5 ml kemudian diencerkan dengan aquades sampai 25 ml (pengenceran 5 kali) dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum.

III.3.8. Perhitungan Kadar Triptofan

Untuk menghitung kadar triptofan dalam masing-masing sampel adalah dengan cara memasukkan hasil absorpsi ke dalam persamaan garis regresi linear (Mulia dan Syahrani, 1990) yaitu : $Y = bx + a$, dimana :

Y = Absorpsi yang didapat dari sampel

x = Kadar triptofan dalam sampel

b dan a = Konstanta persamaan garis regresi linear yang didapat dari larutan triptofan baku.

III.3.9. Peubah

Dalam penelitian ini peubah yang diamati adalah kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2%.

BAB IV
HASIL PENELITIAN

Pemeriksaan terhadap sampel bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk pada medium glukosa 2% pada 10 tabung reaksi telah dilaksanakan dan didapatkan besarnya kadar triptofan dari seriap sampel seperti yang terlihat dalam Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Perbandingan Kadar Triptofan Bakteri *Salmonella pullorum* dalam Glukosa 2% (12×10^8 /ml) dengan Kadar Triptofan Glukosa 2%

No.Sampel	Kadar triptofan dalam bakteri <i>Salmonella pullorum</i> yang dipupuk dalam glukosa 2% (mg/l)	Kadar triptofan dalam medium glukosa 2% (mg/l)
1	5,028	3,1472
2	3,835	3,0083
3	4,135	3,1028
4	4,444	3,3139
5	4,222	3,2972
6	5,166	3,1944
7	4,583	3,6194
8	4,222	3,2306
9	4,166	2,4917
10	3,861	2,4722
Total	43,662	30,8782
Rata-rata	4,3662	3,0878
SD	0,4474	0,3637

Dari tabel 2 tersebut dapat diketahui bahwa rata-rata kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2% adalah $4,3665 \pm 0,4474$ mg/l, sedang rata-rata kadar triptofan pada medium glukosa 2% adalah $3,0878 \pm 0,3637$ mg/l.

Dari perhitungan rata-rata tersebut dapat diperoleh bahwa rata-rata kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2% untuk kehidupan normalnya adalah $4,3665 \pm 0,4474$ mg/l. Hal ini berarti bahwa *Salmonella pullorum* membutuhkan triptofan dari medium glukosa 2%.

BAB V

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini didapatkan kadar triptofan yang terdapat dalam bakteri *Salmonella pullorum* lebih tinggi dibandingkan dengan kadar triptofan yang terdapat dalam medium glukosa 2%.

Bakteri *Salmonella pullorum* adalah bakteri yang bersifat gram negatif, pada dinding selnya terdiri atas peptidoglikan, lipopolysakarida, lipid dan protein (Lehninger, 1970). Pada dinding selnya juga didapatkan adanya variasi beberapa asam amino aromatik dan mengandung sulfur (Gupte, 1982).

Bakteri *Salmonella pullorum* bersifat heterotroph yang dapat mengolah sendiri bahan mentah dalam medium (anorganis) menjadi bahan hidup dalam sel bakteri *Salmonella pullorum* (organis) (Yatim, 1982).

Triptofan merupakan salah satu asam amino yang memiliki cincin aromatik selain fenilalanin dan tyrosin (Jawetz, 1986). Triptofan juga merupakan salah satu asam amino glikogenik dan ketogenik. Triptofan sebagai asam amino glikogenik karena triptofan dapat memberikan kenaikan produksi glukosa pada hati yang diperlukan untuk glukoneogenesis (Harper, 1983).

Pada metabolisme karbohidrat fosfoenolpiruvat, suatu zat antara pada glikolisis berkondensasi dengan eritrosa -4-fosfat, suatu zat antara pada jalan reaksi pentosa fosfat menjadi triptofan, tirosin dan fenilalanin. Asam kharismat

yang terbentuk merupakan senyawa dasar bagi biosintesa triptofan, tirosin dan fenilalanin (Harper, 1983).

Bakteri *Salmonella* apabila masuk ke tubuh host secara peroral akan menuju alat pencernaan menembus dinding usus halus kemudian ke hati dan ikut aliran darah menuju ovarium sehingga mengakibatkan ovaritis dan menurunnya daya tetas telur.

Pada organ tubuh host konsentrasi triptofan tinggi pada hati, sehingga apabila bakteri *Salmonella pullorum* menyerap lebih tinggi triptofan akan mengakibatkan metabolisme glikogen terganggu dan menunjukkan gejala-gejala kelemahan, mengantuk, sayap menggantung pada ayam yang terserang penyakit pullorum.

Triptofan berperan langsung dalam siklus asam sitrat yaitu sebagai sumber asetil KoA. Asetil KoA merupakan senyawa antara dalam siklus asam sitrat. Siklus asam sitrat adalah mekanisme yang memungkinkan dilepaskannya energi bebas selama oksidasi karbohidrat, lemak dan asam amino (Harper, 1983).

Siklus asam sitrat berperan pula pada glukoneogenesis karena semua atau sebagian rangka karbonnya dimasukkan ke dalam siklus asam sitrat.

Dengan mekanisme tersebut di atas maka bakteri *Salmonella pullorum* membutuhkan triptofan dari medium glukosa 2% dengan mengikat secara utuh dalam sel bakteri.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1. Kesimpulan

Penelitian yang bertujuan untuk mengetahui kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2% telah dilaksanakan dan dapat ditarik kesimpulan bahwa rata-rata kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2% sebesar $4,3665 \pm 0,4474$ mg/l, sedangkan kadar triptofan pada medium glukosa 2% sebesar $3,0878 \pm 0,3637$ mg/l.

VI.2. S a r a n

Setelah melakukan penelitian terhadap kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2%, maka alangkah baiknya penelitian ini dilanjutkan terhadap pemeriksaan kadar triptofan pada tempat predileksi dari bakteri *Salmonella pullorum* antara lain pada paru-paru, usus dan ovarium.

RINGKASAN

MUHARTI RAHAYU. Penelitian terhadap kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2% telah dilaksanakan tanggal 14 Nopember sampai 5 Desember 1993 (Di bawah bimbingan Bambang Sasongko, M.S., Drh. sebagai pembimbing pertama dan Midian Naibaho, M.S., Drh. sebagai pembimbing kedua).

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui akan kebutuhan bakteri *Salmonella pullorum* terhadap triptofan untuk kehidupannya.

Sebanyak sepuluh tabung reaksi yang berisi glukosa 2% terlebih dahulu diperiksa kadar triptofannya kemudian dipupuk bakteri *Salmonella pullorum*, setelah panen dicentrifuge dan dipecah dengan BIOSONIC pada kecepatan 60.000 Hz selama 15 menit, kemudian diuapkan dalam lemari asam dan diperiksa dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2% adalah $4,3665 \pm 0,4474$ ppm, sedangkan kadar triptofan dalam medium glukosa 2% adalah $3,0878 \pm 0,3637$ ppm.

Dari perhitungan rata-rata tersebut diketahui bahwa kebutuhan normal kadar triptofan untuk bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk dalam medium glukosa 2% adalah $4,3665 \pm 0,4474$. Hal ini membuktikan bahwa bakteri *Salmonella pullorum* membutuhkan triptofan dari medium glukosa 2% untuk

kehidupannya dengan mengikat triptofan secara utuh dalam sel bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1978. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular, Jilid I. Dir. Jen. Peternakan, Dep. Pertanian, Jakarta : 77 - 86.
- Biester, M.S. and L.H. Schwartz. 1965. Diseases of Poultry, 5th Ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. : 220-254.
- Carter, G.R. 1973. Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology, Clinical Microbiology Laboratory, 2nd Ed. Department of Microbiology and Public Health Michigan State University East Lansing, Michigan : 47-57.
- Cohrs, P., 1966. Text Book of the Special Pathological Anatomy of Domestic Animals, 1st Ed. Pergamon Press, Oxford, Itc; 27-28, 762-767.
- Cowan, S.T. and Steel's. 1975. Manual for Identification of Medical Bacteria, 2nd Ed. Cambridge University Press : 113-114, 109.
- Gordon, R.F. 1982. Poultry Diseases, 1st Ed. Bailliere Tindal, London. 10-21.
- Hagan, W.A. and D.W. Brunner. 1981. The Infectious Disease of Domestic Animal With Special Reference to Etiology and Biologic Therapy, 3rd Ed. Comstock Publishing Associate, A Division of Cornell University Press, Ithaca, New York : 90-93.
- Harper, H.A. 1983. Harper's Review of Biochemistry, diterjemahkan oleh Darmawan, I. 1987. Biokimia, EGC. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Hofstad, M.S. 1972. Diseases of Poultry, 7th Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa Press : 80-106.
- Hungerford, T.G. 1969. Diseases of Poultry, 4th Ed. Anger and Robertson Sydney London, Melbourne : 231-240.
- Jacson, C.A.W. and G.C. Simmons. 1981. Standard Magnostic Technique for Pullorum Disease, 1st Ed. Published by The Australian Burean of Animal Health : 1-10.
- Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1981. Review of Medical Microbiology, 14th Ed. Lange Medical Publication, Draver. Los Altos, California : 325-329.

- Jean, F. Mac Faddin. 1980. Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. Vol. II Ed. William and Wilkins. Baltimore, London. Los Angeles, Sidney. p. 482-483.
- Lehninger, A.L. 1985. Biochemistry. Diterjemahkan oleh Thena Widjaja. 1990. Dasar-dasar Biokimia Jilid 2. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Luken, K.I. 1974. Lacture Natus for Veterinary Biology, Vol. V. General Veterinary Microbiology and Immunology : 701-705.
- Merchant, J.A. and R.A. Packer. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 5th. Ed. Iowa State College Press. Ames. 341-361.
- Mulia, M. dan A. Syahrani. 1990. Aplikasi Analisis Spektrofotometer UV-VIS, Mecphiso Grafica, Surabaya.
- Ralp, J. Fessenden and Joan S. Fessenden. 1984. Kimia Organik Jilid 2. Diterjemahkan oleh Pujoatmoko, 1984. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Ressang, A.A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi Kedua. Team Leader IFAD Project : Bali Cattle Disease Investigation Unit, Denpasar, Bali. 591-593.
- Seneviratna, P. 1969. Disease of Poultry, 2nd Ed. John Wright and Sons LTD, Bristol : 47-51.
- Soltys, M.A. 1963. Bacteria and Fungi Pathogenic to More and Animals. Bailliere Tindall and Cox. London. 309-319.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Besarnya Panjang Gelombang dan Absorbansi Triptofan pada Bakteri *Salmonella pullorum* yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2%. Diperiksa dengan Spektrofotometer UV-VIS

No. Sampel	Panjang Gelombang	Absorbsi 1	Absorbsi 2	Absorbsi 3
1	220 nm	0,212	0,210	0,212
2	220 nm	0,166	0,170	0,167
3	220 nm	0,178	0,179	0,181
4	220 nm	0,189	0,192	0,190
5	220 nm	0,183	0,182	0,181
6	220 nm	0,216	0,216	0,217
7	220 nm	0,196	0,196	0,193
8	220 nm	0,182	0,181	0,182
9	220 nm	0,178	0,178	0,184
10	220 nm	0,166	0,172	0,168

Lampiran 2. Besarnya Panjang Gelombang dan Absorpsi Triptofan pada Medium Glukosa 2%. Diperiksa dengan Spektrofotometer UV-VIS

No. Sampel	Panjang Gelombang	Absorpsi 1	Absorpsi 2	Absorpsi 3
1	280 nm	0,134	0,132	0,134
2	280 nm	0,127	0,130	0,128
3	280 nm	0,132	0,131	0,131
4	280 nm	0,140	0,139	0,139
5	280 nm	0,140	0,141	0,138
6	280 nm	0,133	0,140	0,135
7	280 nm	0,150	0,151	0,150
8	280 nm	0,136	0,137	0,136
9	280 nm	0,112	0,106	0,1097
10	280 nm	0,104	0,111	0,109

Lampiran 3. Penentuan Persamaan Kurva Standar Triptofan pada Bakteri *Salmonella pullorum* yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2% dari Beberapa Konsentrasi

No.	Konsentrasi x (ppm)	Absorbansi y.	xy	x ²	y ²
1	1,60	0,306	0,490	2,56	0,094
2	2,40	0,445	1,068	5,76	0,189
3	3,20	0,602	1,926	10,24	0,362
4	4,0	0,800	3,20	16	0,640
5	4,80	0,886	4,253	23,04	0,785
6	6,40	0,172	7,501	40,96	1,374
Σ	22,4	4,211	18,438	98,56	3,453

Persamaan garis regresi $y = ax + b$, maka :

$$\begin{aligned}
 a &= \frac{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{n \cdot \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2} \\
 &= \frac{6 \cdot 18,438 - 22,40 \cdot 4,211}{6 \cdot 98,56 - (22,40)^2} \\
 &= 0,18
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 b &= \frac{\Sigma y - a \cdot \Sigma x}{n} \\
 &= \frac{4,211 - 0,18 \cdot 22,40}{6} \\
 &= 0,03
 \end{aligned}$$

Sehingga persamaan garis regresi kurva standar adalah :

$$Y = 0,18x + 0,03$$

Koefisien korelasi garis regresi :

$$\begin{aligned} r &= \frac{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{\sqrt{\{n \cdot \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2\} \{n \cdot \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2\}}} \\ &= \frac{6 \cdot 18,438 - 22,40 \cdot 4,211}{\sqrt{\{6 \cdot 98,56 - (22,40)^2\} \{6 \cdot 3,453^2 - (4,211)^2\}}} \\ &= 0,9967 \end{aligned}$$

Lampiran 4. Penentuan Persamaan Kurva Standar Triptofan pada Medium Glukosa 2% dari Beberapa Konsentrasi

No.	Konsentrasi x (ppm)	Absorbansi y	xy	x ²	y ²
1	1,60	0,285	0,456	2,56	0,081
2	2,40	0,426	1,022	5,76	0,182
3	3,20	0,596	1,907	10,24	0,355
4	4,0	0,788	3,152	16	0,621
5	4,80	0,882	4,234	23,04	0,778
6	6,40	1,156	7,398	40,96	1,336
Σ	22,4	4,133	18,169	98,56	3,353

Persamaan garis regresi $y = ax + b$, maka :

$$\begin{aligned}
 a &= \frac{n \cdot \sum xy - \sum x \cdot \sum y}{n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2} \\
 &= \frac{6 \cdot 18,1696 - 22,4 \cdot 4,133}{6 \cdot 98,56 - (22,40)^2} \\
 &= 0,18
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 b &= \frac{\sum y - a \cdot \sum x}{n} \\
 &= \frac{4,133 - 0,18 \cdot 22,40}{6} \\
 &= 0,02
 \end{aligned}$$

Sehingga persamaan garis regresi kurva standar adalah :

$$Y = 0,18x + 0,02$$

Koefisien korelasi garis regresi :

$$\begin{aligned} r &= \frac{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{\sqrt{\{n \cdot \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2\} \{n \cdot \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2\}}} \\ &= \frac{6 \cdot 18,1696 - 22,4 \cdot 4,133}{\sqrt{\{6 \cdot 98,56 - (22,40)^2\} \cdot \{6 \cdot 3,3530^2 - (4,133)^2\}}} \\ &= 0,9967 \end{aligned}$$

Lampiran 5.

Contoh Perhitungan Kadar Triptofan

1. Perhitungan kadar Triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk pada medium glukosa 2%

$$y = bx + a$$

$$= 0,2113$$

$$a = 0,18$$

$$b = 0,03$$

$$\begin{aligned} \text{maka } x &= \frac{y - 0,03}{0,18} \\ &= \frac{0,2113 - 0,03}{0,18} \\ &= 1,0055 \end{aligned}$$

setelah pengenceran 5 x maka, $5 \times 1,0055 = 5,028$ ppm.

2. Perhitungan kadar Triptofan pada medium glukosa 2%

$$y = bx + a$$

$$= 0,1333$$

$$a = 0,18$$

$$b = 0,02$$

$$\begin{aligned} \text{maka } x &= \frac{y - 0,02}{0,18} \\ &= \frac{0,1333 - 0,02}{0,18} \\ &= 0,6294 \end{aligned}$$

setelah pengenceran 5 x maka, $5 \times 0,6294 = 3,1472$ ppm.

Lampiran 6. Kadar Triptofan pada Bakteri *Salmonella pullorum* yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2%

No. Sampel	Kadar (mg/liter)
1	5,028
2	3,835
3	4,135
4	4,444
5	4,222
6	5,166
7	4,583
8	4,222
9	4,166
10	3,861

Lampiran 7. Kadar Triptofan pada Medium Glukosa 2%

No. Sampel	Kadar (mg/liter)
1	3,1472
2	3,0083
3	3,1028
4	3,3139
5	3,2972
6	9,1944
7	3,6194
8	3,2306
9	2,4917
10	2,4722

Lampiran 8. Hasil Perhitungan Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Triptofan pada Bakteri *Salmonella pullorum* yang Dipupuk pada Medium Glukosa 2%.

No. Sampel	x_i	$x_i - x$	$(x_i - x)^2$
1	5,028	0,6615	0,4376
2	3,835	-0,5315	0,2825
3	4,138	-0,2285	0,0522
4	4,444	0,0775	0,0060
5	0,222	-0,1445	0,0209
6	5,166	0,7995	0,6392
7	4,583	0,2165	0,0469
8	4,222	-0,1445	0,0209
9	4,166	-0,2005	0,0402
10	3,861	-0,5055	0,2555
Σ			1,8019

$$n = 10$$

$$\begin{aligned} \text{maka SD} &= \frac{\Sigma (x_i - x)^2}{n - 1} \\ &= \frac{1,8019}{9} \\ &= 0,4474 \end{aligned}$$

Jadi rata-rata kadar triptofan pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk pada medium glukosa 2% adalah 4,3665 \pm 0,4474 ppm (mg/l).

Lampiran 9. Hasil Perhitungan Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Triptofan pada Medium Glukosa 2%.

No. Sampel	x_i	$x_i - x$	$(x_i - x)^2$
1	3,1472	0,0594	0,0035
2	3,0083	-0,0795	0,0063
3	3,1028	0,0150	0,0002
4	3,3139	0,2261	0,0511
5	3,2972	0,2094	0,0438
6	3,1944	0,1066	0,0114
7	3,6194	0,5316	0,2826
8	3,2306	0,1428	0,0204
9	2,4617	-0,6261	0,3920
10	2,4722	-0,6156	0,3790
Σ		30,8777	1,1903

$$n = 10$$

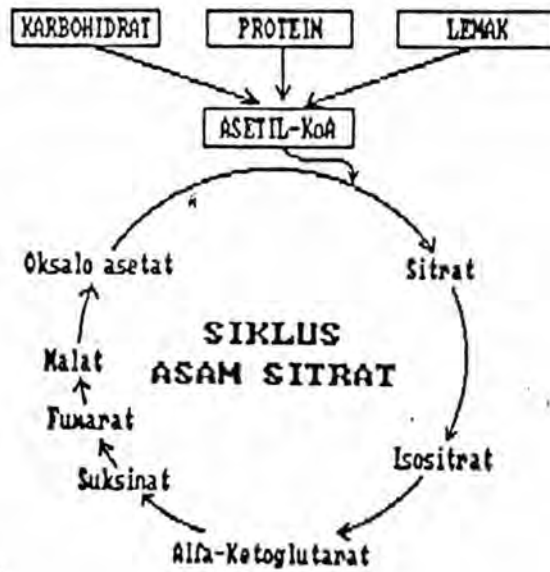
$$\begin{aligned}
 \text{maka SD} &= \frac{\Sigma (x_i - x)^2}{n - 1} \\
 &= \frac{1,1903}{9} \\
 &= 0,3637
 \end{aligned}$$

Jadi rata-rata kadar triptofan pada medium glukosa 2% adalah $3,0878 \pm 0,3637$ ppm (mg/l).

Lampiran 10

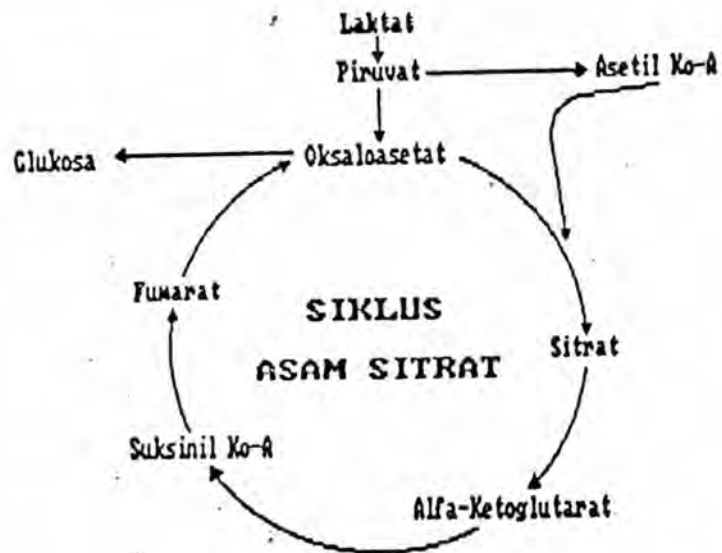
MC. Farland's neplometer standards

Tube Number	Barium Sulfat Standard									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1% BaCl ₂ (ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
1% H ₂ SO ₄ (ml)	9,9	9,8	9,7	9,6	9,5	9,4	9,3	9,2	9,1	9
Approach sel density (x10 ⁸ /ml)	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Approach sel density (in million/ml)	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	2700	3000



Gambar 3. Katabolisme karbohidrat, protein dan lemak, menjadi asetil Ko-A dan peranannya dalam siklus asam sitrat.

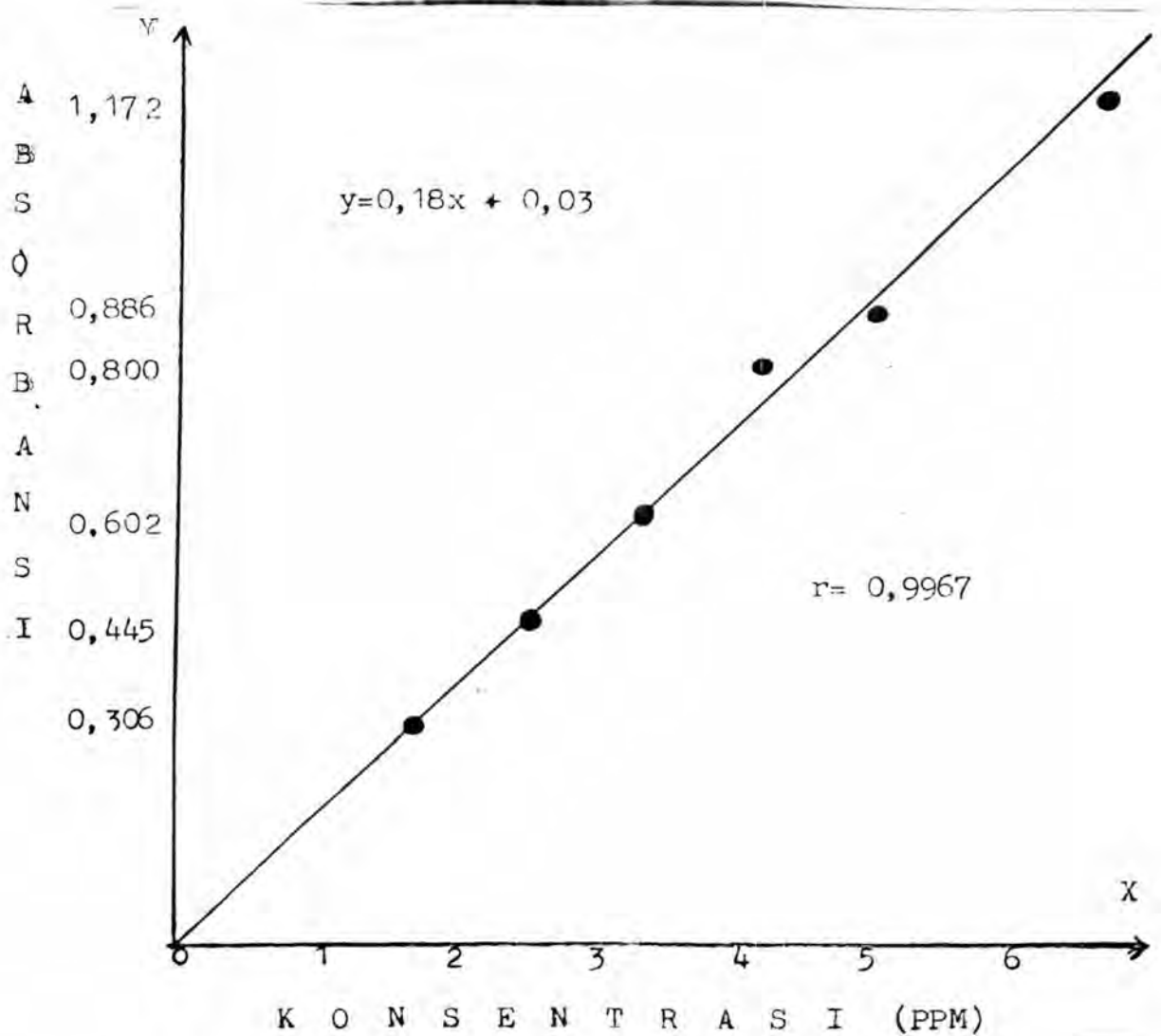
Sumber : Harper, 1983



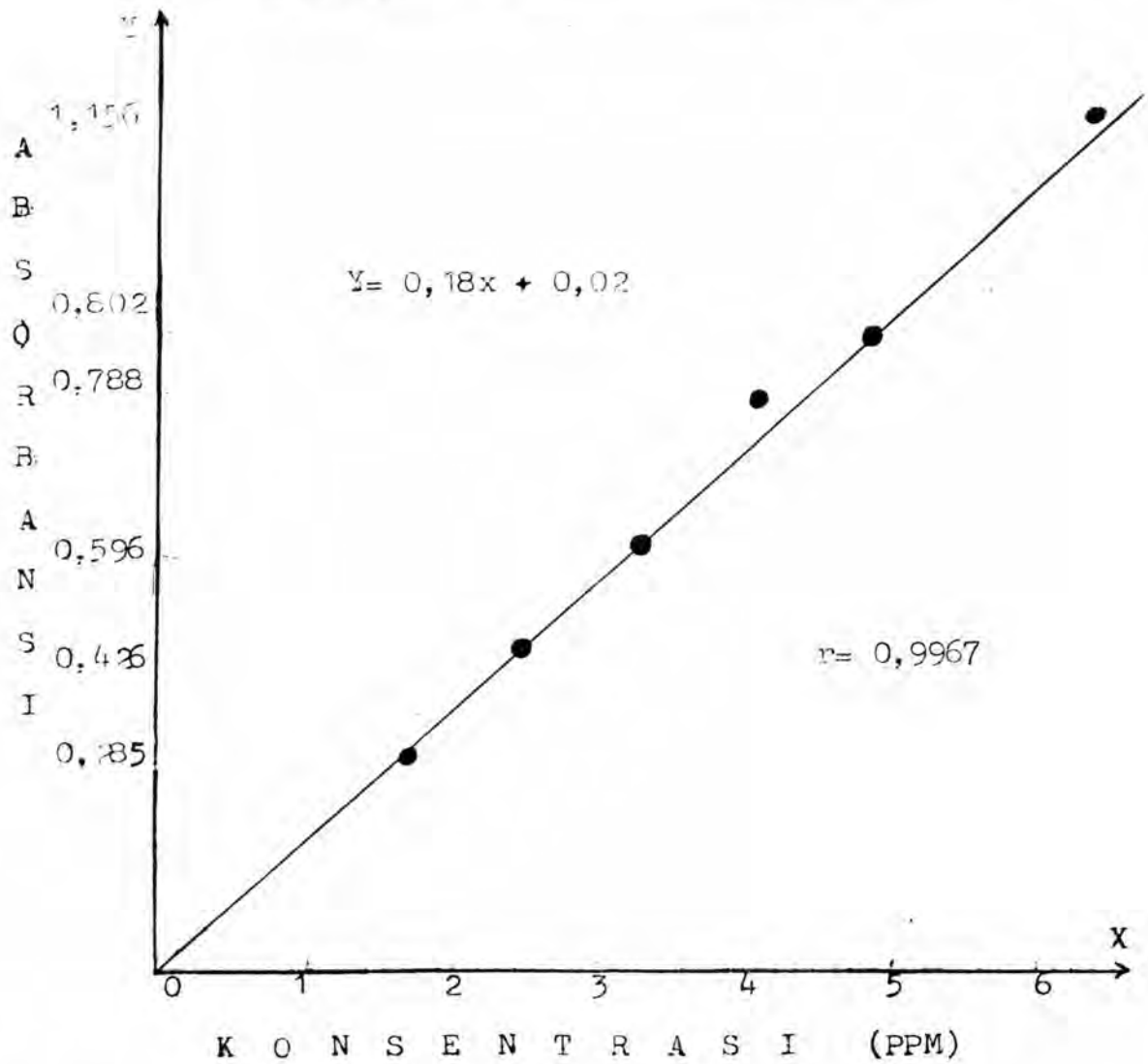
Gambar 4. Peranan siklus asam sitrat pada glukoneogenesis
Sumber : Harper, 1983



Gambar 5. Alat Spektrofotometer HITACHI-557



Gambar 6. Grafik konsentrasi dan absorpsi larutan Triptofan baku pada bakteri *Salmonella pullorum* yang dipupuk pada medium glukosa 2%



Gambar 7. Grafik konsentrasi dan absorpsi larutan Triptofan pada medium glukosa 2%