SKRIPSI

DAYA HAMBAT CAIRAN EMPEDU AYAM YANG DITAMBAHKAN PADA MEDIA CAMPURAN EKSTRAK DAGING SAPI DAN SARI KACANG HIJAU TERHADAP PERTUMBUHAN KUMAN *Staphylococcus aureus* DAN *Bacillus subtilis*

MILIK PERPUSTAKAAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA – SURABAYA

Oleh :

M. IKA IQBAL FAHMI
REMBANG – JAWA TENGAH

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006

DAYA HAMBAT CAIRAN EMPEDU AYAM YANG DITAMBAHKAN PADA MEDIA CAMPURAN EKSTRAK DAGING SAPI DAN SARI KACANG HIJAU TERHADAP PERTUMBUHAN KUMAN *Staphylococcus aureus* DAN *Bacillus subtilis*

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

M. IKA IQBAL FAHMI

060213037

Menyetujui,

Komisi Pembimbing

Prof. Dr. H. Sarmanu, M. S., drh	Suryanie Sarudji, M.Kes., drh
Dosen Pembimbing Pertama	Dosen 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

Ketua Penguji,

Budiarto, M.P., drh

Ketua

Didik Handijatno, M.S., drh

Sekretaris

Dr. E. Bimo Aksono H.P., M.Kes.,drh

Anggota

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S., drh

Anggota

Suryanie Sarudji, M.Kes., drh

Anggota

Surabaya, 5 Juni 2006

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,

Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh

DAYA HAMBAT CAIRAN EMPEDU AYAM YANG DITAMBAHKAN PADA MEDIA CAMPURAN EKSTRAK DAGING SAPI DAN SARI KACANG HIJAU TERHADAP PERTUMBUHAN KUMAN *Staphylococcus aureus* DAN *Bacillus subtilis*

M. IKA IQBAL FAHMI

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat cairan empedu ayam sebagai zat penghambat pertumbuhan kuman yang ditambahkan pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau terhadap pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*.

Penelitian ini membandingkan penambahan cairan empedu ayam dengan tidak ditambah cairan empedu ayam pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau. Isolat kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* hasil uji spesifik (identifikasi) ditanamkan pada media perlakuan. Media perlakuan I (P_1) terdiri dari 0,8 gram ekstrak daging sapi, 1,5 gram *agar base*, 20 mililiter sari kacang hijau dalam 1000 mililiter air. Sedangkan media perlakuan II (P_2) terdiri dari 0,8 gram ekstrak daging sapi, 1,5 gram *agar base*, 20 mililiter sari kacang hijau dan 70 mililiter cairan empedu ayam dalam 1000 mililiter air. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak enam kali. Data dianalisis dengan menggunakan uji t dua sampel bebas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah dan diameter koloni kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media P_1 dibandingkan dengan media P_2 terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) . Hal ini terlihat pada media (P_1) jumlah koloni kuman *Staphylococcus aureus* yang tumbuh 103,83 ± 3,920 koloni dengan diameter 1,51 ± 0,058 milimeter, kuman *Bacillus subtilis* 87,83 ± 6,210 koloni dengan diameter 5,46 ± 0,107 milimeter. Terdapat perbedaan jika dibandingkan dengan media (P_2), jumlah ukuran diameter koloni kuman *Staphylococcus aureus* yang tumbuh 39,50 ± 2,345 koloni dengan diameter 0,68 ± 0,088 milimeter, sedangkan kuman *Bacillus subtilis* dengan pengamatan langsung tidak terlihat koloni kuman yang tumbuh.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan HidayahNya sehingga Skripsi dengan judul **Daya Hambat Cairan Empedu Ayam Yang Ditambahkan Pada Media Campuran Ekstrak Daging Sapi dan Sari Kacang Hijau Terhadap Pertumbuhan Kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*** dapat diselesaikan. Skripsi ini dibuat dan disusun sebagai salah satu syarat akamedik untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran hewan.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. H. Sarmanu, M. S., drh. selaku dosen pembimbing pertama dan Suryanie Sarudji, M.Kes., drh selaku dosen pembimbing kedua, atas saran dan bimbingannya selama ini.
3. Koordinator Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas izinnya untuk menggunakan fasilitas laboratorium selama penelitian.
4. Semua pihak yang turut membantu penyusunan tulisan ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini jauh dari sempurna. Untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk penyempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Surabaya, 21 April 2006

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i

LEMBAR IDENTITAS ii

LEMBAR PENGESAHAN iii

ABSTRAK iv

KATA PENGANTAR v

DAFTAR ISI vi

DAFTAR TABEL ix

DAFTAR GAMBAR x

DAFTAR LAMPIRAN xi

BAB I PENDAHULUAN 1

I.1. Latar belakang penelitian 1

I.2. Rumusan masalah 3

I.3. Landasan teori 4

I.4. Tujuan penelitian 4

I.5. Manfaat penelitian 4

I.6. Hipotesis 5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 6

II.1. Empedu 6

II.1.1. Tinjauan tentang empedu 6

II.1.2. Aktivitas garam empedu dalam menghambat bakteri 9

II.2. Arti dan peran penting daging 10

II.3. Kacang hijau 11

II.3.1. Klasifikasi dan morfologi 11

II.3.2. Kandungan biji dan kegunaan 12

II.4. *Staphylococcus aureus* 13

II.5. *Bacillus subtilis* 15

II.6. Dinding kuman 16

BAB III MATERI DAN METODE 19

III.1. Tempat dan waktu penelitian 19

III.2. Bahan penelitian 19

III.3. Alat penelitian 19

III.4. Metode penelitian 20

III.4.1. Pengujian sifat kuman 20

III.4.1.1. Identifikasi sifat *Staphylococcus aureus* 20

III.4.1.2. Identifikasi sifat *Bacillus subtilis* 21

III.4.2. Pembuatan media 21

III.4.2.1. Mempersiapkan cairan empedu ayam 21

III.4.2.2. Mempersiapkan ekstrak daging sapi 22

III.4.2.3. Mempersiapkan sari kacang hijau 22

III.4.2.4. Pembuatan media campuran dari ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam 23

III.4.3. Menguji hambatan cairan empedu ayam terhadap pertumbuhan kuman pada media uji 24

III.4.3.1. Persiapan inokulat kuman yang ditanam 24

III.4.3.2. Penanaman inokulat kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* pada media uji 24

III.5. Rancangan penelitian 25

III.6. Variabel yang diamati 25

III.7. Analisis data 26

BAB IV HASIL PENELITIAN 27

BAB V PEMBAHASAN 29

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN 33

RINGKASAN 34

DAFTAR PUSTAKA 36

LAMPIRAN 40

DAFTAR TABEL

Tabel III.1 Rata-rata jumlah koloni kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam (koloni) 27

Tabel III.2 Rata-rata diameter koloni *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam (milimeter) 27

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Sintesis garam empedu dari kolesterol 8

Gambar II.2 Dinding sel bakteri Gram positif 18

Gambar II.3 Dinding sel bakteri Gram negatif 18

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rata-rata jumlah koloni kuman *Staphylococcus aureus* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam 40

Lampiran 2. Rata-rata jumlah koloni kuman *Bacillus subtilis* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam 42

Lampiran 3. Rata-rata diameter koloni kuman *Staphylococcus aureus* padamedia campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam 44

Lampiran 4. Rata-rata diameter koloni kuman *Bacilluc subtilis* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam..... 46

Lampiran 5. Gambar pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* pada media ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau dengan penambahan cairan empedu ayam dan tidak ditambah cairan empedu ayam serta gambar pertumbuhan kuman *Bacillus subtilis* pada media campuran ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau dengan penambahan cairan empedu ayam dan tidak ditambah cairan empedu ayam 48

BAB I

PENDAHULUAN

Multi Jasa

BAB I
PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Penelitian

Manusia dalam melangsungkan hidupnya perlu memenuhi kebutuhan primer, salah satunya adalah makan. Dalam Sejarah untuk memenuhi kebutuhan makanan, manusia mengalami perubahan cara hidup sesuai perkembangan zaman, dimulai dari berburu sampai bercocok tanam atau beternak. Usaha beternak sebelumnya merupakan usaha sekunder bagi masyarakat, namun saat ini telah berkembang menjadi usaha primer. Banyak upaya telah dilakukan untuk peningkatan produktifitas ternak, contohnya melakukan perubahan pola usaha peternakan yang dilakukan secara ektensif menjadi lebih intensif serta modifikasi model peternakan dalam upaya meningkatkan efisiensi produktifitas ternak. Perubahan tersebut berdampak pada munculnya permasalahan baru, terutama masalah pakan dan penyakit. Hewan ternak yang dipelihara semakin rentan terhadap penyakit dan munculnya penyakit baru (Warsito, 2005).

Upaya meningkatkan produktivitas ternak dengan tuntutan menjaga ternak dalam kondisi sehat menghadapi kendala utama adanya penyakit infeksius yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit dan jamur. Tindakan isolasi dan identifikasi mikroorganisme penyebab penyakit, atau keperluan diagnosa penyakit infeksi diperlukan *artificial medium* (medium perbenihan buatan untuk menumbuhkan kuman), dimana saat ini bahan *artificial medium* tersebut harus didatangkan dari luar negeri. Bahan *artificial medium* ini harganya yang cukup mahal dan tidak tersedia dalam kemasan kecil, padahal

untuk mengisolasi dan mengindentifikasi satu kuman memerlukan beberapa media isolasi dan media identifikasi (Wardanie, 1999).

Upaya mengurangi ketergantungan dari luar negeri telah dilakukan modifikasi pembuatan media pertumbuhan bakteri dengan menggunakan bahan yang mudah tersedia dan murah. Tyasningsih dan Suryanie (1999) telah mencoba membuat media sederhana pengganti media *nutrient agar* (NA) dari ekstrak daging sapi. Media tersebut selain dapat ditumbuhi beberapa kuman Gram positif maupun Gram negatif seperti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*, juga memberikan tingkat kesuburan yang sama dengan media *nutrient agar*.

Lebih lanjut penelitian Tyasningsih dkk. (2001) telah menambahkan sari kacang hijau pada media ekstrak daging sapi untuk menumbuhkan kuman-kuman lainnya seperti *Proteus sp* dan *Streptococcus pyogenes,* ternyata hasilnya memuaskan. Beberapa penelitian sebelumnya seperti oleh Rukmana (1997), Rahayu dkk. (1993) dan Dyahwahyuningapsari (1998) menggunakan sari kacang hijau sebagai sumber nutrisi pertumbuhan kuman *Acetobacter xylinum.*

Media dari ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau ini masih bersifat umum, sehingga media ini tidak dapat digunakan sebagai medium selektif untuk kuman tertentu. Media ini tidak dilengkapi dengan zat penghambat, sehingga kuman-kuman pencemar yang banyak tersebar di alam seperti *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* mudah tumbuh. Kedua kuman ini lebih mudah tumbuh pada media sederhana dari pada bakteri lain, dan sering kali mencemari media yang dibuat. Oleh sebab itu perlu dilakukan penambahan zat penghambat

supaya pertumbuhan kuman pencemar dapat dihambat pada media buatan (Suryanie, 1997 ; Tyasningsih dkk. 2001).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa asam atau garam empedu yang terdapat dalam cairan empedu dapat digunakan sebagai zat penghambat khususnya untuk kuman Gram positif. Darmawan (1991) dalam penelitiannya menggunakan cairan empedu ayam untuk menghambat kuman *Streptococcus faecalis*, sedangkan Suryanie (1997) telah menggunakan cairan empedu ayam sebagai zat penghambat kuman pada media *nutrient broth* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil dari beberapa penelitian sebelumnya, maka penelitian ini mencoba menambahkan cairan empedu ayam sebagai zat penghambat kuman *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* pada media yang dibuat dari ekstrak daging sapi yang ditambah sari kacang hijau.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut : Apakah cairan empedu ayam yang ditambahkan pada media campuran dari ekstrak daging sapi dan kacang hijau menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan kuman *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*.

I.3. Landasan Teori

Dalam cairan empedu terdapat garam empedu. Garam empedu merupakan zat yang dapat berfungsi sebagai deterjen anionik (Pelczar, 1988 ; Southerland, 1990 ; Lay dan Hastowo, 1992 ; Jawetz *et al.*, 1995). Menurut Joklik *et al.* (1986) dan Jawetz *et al.* (1995) detergen anionik lebih efektif menghambat kuman Gram positif dan bekerja lebih aktif pada pH sedikit asam. Boyd dan Marr (1995) mengemukakan bahwa sifat detergen anionik terletak pada bagian yang bermuatan negatif dari molekulnya. Oleh karena kemampuan menurunkan tegangan permukaan, maka detergen ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

I.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya hambatan dari penambahan cairan empedu ayam pada media campuran ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau terhadap pertumbuhan kuman *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*, sehingga diharapkan dapat menjadi media selektif yang menghambat pertumbuhan kuman Gram positif

I.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang daya hambat cairan empedu ayam terhadap pertumbuhan kuman Gram positif khususnya *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* sebagai kuman pencemar dalam pembuatan media pertumbuhan bakteri. Selain itu memberikan upaya alternatif dalam pemanfaatan empedu ayam yang merupakan hasil limbah rumah

potong ayam (RPA) sebagai salah satu bahan penghambat untuk pembuatan *artificial medium*.

I.6. Hipotesis

Penambahan cairan empedu ayam pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau dapat mempengaruhi pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Multi Jasa

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Empedu

II.1.1 Tinjauan Tentang Empedu

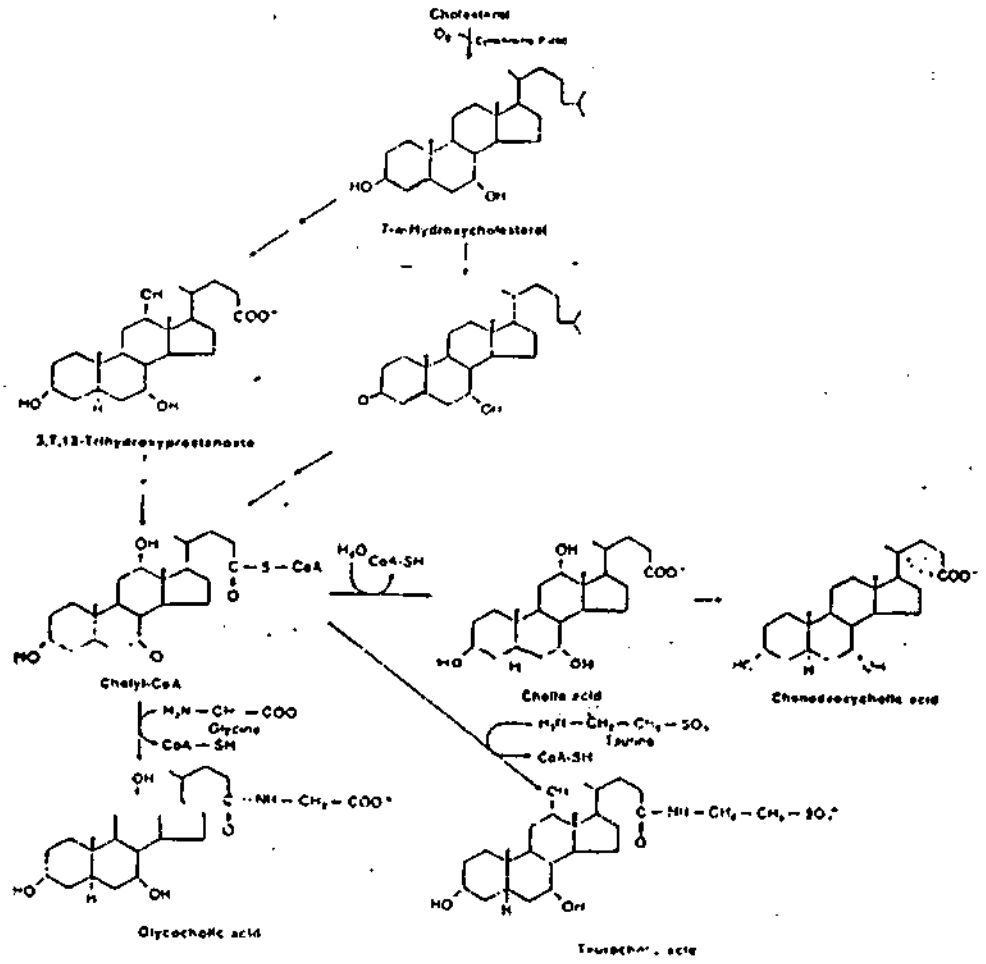
Empedu merupakan cairan berwarna kuning kecoklatan, atau hijau yang disekresikan oleh sel hepar dalam jumlah 800 – 1000 ml setiap harinya. Empedu secara parsial merupakan produk ekskretori dan juga merupakan suatu sekresi digestif (Tortora dan Anagnostakos, 1990). Sel hepar secara fisiologis mensekresikan sejumlah kecil empedu dalam kanakuli empedu, selanjutnya dialirkan ke duodenum melalui saluran empedu. Dalam keadaan tidak makan, muara saluran empedu yang menuju duodenum tertutup dan cairan empedu akan masuk ke kandung empedu. Konstraksi dinding kandung dipengaruhi oleh hormon kolesistokinin mukosa (selaput lendir) usus (Solomon dan Davis, 1983 ; Ganong, 2003). Empedu mempunyai kisaran pH 7,4 sampai 8,5 dan bersifat isotonis dengan darah (Mustchler, 1991).

Komponen cairan empedu yang terpenting dalam aktifitas penghambatan pertumbuhan kuman adalah asam empedu (Jawetz *et al.*, 1995 ; dan Southerland, 1990). Dua derivat asam empedu utama (primer) yang dibentuk didalam hati dari kolesterol adalah asam kholat dan asam khenodeoksikholat. Dalam kolon, kuman mengubah asam kholat menjadi asam deoksikholat, dan mengubah asam khenodeoksikholat menjadi asam lithokholat yang kemudian disebut asam empedu sekunder. Sebagian besar asam empedu sekunder ini bersama dengan kolesterol diekskresikan bersama feses. Asam empedu primer dan sebagian kecil asam empedu sekunder yang diekskresikan, direabsorbsi oleh saluran intestinal

terus ke aliran darah, kemudian diambil kembali oleh hepar dan disekresikan kembali ke dalam empedu (Devlin, 1992). Konjugasi asam empedu terjadi dalam cairan empedu, dan konjugatnya membentuk garam natrium dan kalium dalam empedu hati yang bersuasana alkalis (Ganong, 2003).

Asam empedu merupakan produk akhir dari kolesterol yang disintesis dalam hepar dan berfungsi untuk membantu absorbsi triasilgliserol dan vitamin-vitamin yang dapat larut dalam lemak. Empedu tersusun atas air, garam empedu, pigmen empedu, lesitin, kolesterol, garam anorganik, asam lemak, serta alkalin fosfatase, dimana garam empedu merupakan komposisi terbesar setelah air (Ganong, 2003). Garam empedu berasal dari asam empedu primer yang disintesis pada sel parenchim hepar, kemudian mengalami ionisasi pada pH 7 (Devlin, 1992). Garam empedu adalah garam natrium atau kalium dari asam empedu yang dikonjugasi dengan asam amino melalui ikatan amida antara gugus karboksil (COOH) dari asam empedu dan gugus amino (NH_2) dari glisin (H_2N-CH_2-COOH) atau taurin (H_2N-CH_2-CH_2-SO_3H) (Devlin, 1992).

Garam empedu dengan bagian terlarut dalam lemak dan berstruktur steroid merupakan detergen yang bersifat anion (Jawetz *et al.*, 1995). Detergen anionik disebut juga senyawa yang aktif permukaan karena mempunyai sifat terkonsentrasi dipermukaan. Fungsi detergen dari garam empedu adalah merubah hubungan energi pada antar permukaan dengan mengurangi tegangan permukaan atau bagian antar permukaan. Detergen sebagai senyawa aktif permukaan memiliki kelompok menarik air (hidrofilik) dan menolak air (hidrofobik) (Joklik *et al.*, 1986).



Gambar II.1. Sintesis garam empedu dari kolesterol (Mathews dan Holde, 1990)

Menurut Tortora dan Anagnostakos (1990). Garam empedu mempunyai peranan dalam mengatur emulsifikasi, yaitu pemecah bola-bola lemak yang besar menjadi suspensi droplet lemak yang berdiameter satu mikrometer. Droplet lemak kecil ini masing-masing permukaan bila digabung membentuk suatu permukaan

yang luas. Hal ini berguna untuk membantu aktivitas enzim lipase dari pankreas yang dibutuhkan untuk mempercepat penyerapan lemak.

Selanjutnya dijelaskan oleh Cantarow dan Trumper (1956), bahwa fungsi garam empedu selain menurunkan tegangan permukaan, juga membantu absorbsi vitamin yang larut dalam lemak serta melarutkan kolesterol. Ditambahkan juga Devlin (1992), bahwa garam empedu berfungsi sebagai derivat kolesterol membantu kolesterol tetap larut dalam empedu. Sebaliknya kolesterol melindungi membran kandung empedu dari pengaruh iritasi garam empedu.

II.1.2 Aktivitas Garam Empedu Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri

Menurut Jawetz *et al.* (1995), garam empedu dengan bagian yang larut dalam lemak dan berstruktur steroid merupakan detergen yang bersifat anion. Lebih lanjut dijelaskan bahwa garam empedu mampu menjaga kandung empedu dari bakteri (Sung *et al.*, 1992). Pembuatan media selektif untuk *Enterobatericeae* yaitu *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) dan *Mac Conkey Agar* (MCA), ditambahkan garam empedu untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (Lay dan Hastowo, 1992).

Joklik *et al.* (1986) mengemukakan bahwa agen anionik lebih aktif pada pH asam. Selain itu, dikatakan pula bahwa agen anionik efektif melawan bakteri Gram positif, tetapi kurang efektif melawan spesies Gram negatif. Boyd dan Marr (1995) menyebutkan bahwa sifat detergen anionik terletak pada bagian yang bermuatan negatif dari molekulnya. Karena kemampuannya menurunkan

tegangan permukaan, maka detergen ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Menurut Oser (1965) Selain menyebabkan penurunan tegangan permukaan pada membran sel, garam empedu juga menyebabkan kerusakan membran sel. Dijelaskan oleh Joklik *et al.* (1986) kerusakan pertama yang disebabkan oleh garam empedu dalam melisiskan bakteri *Pneumococcus* adalah garam empedu memberikan kesempatan pada enzim otolitik untuk bereaksi pada substrat dan selanjutnya merusak seluruh sel.

II.2. Arti dan Peran Penting Daging

Bahan makanan yang berasal dari daging mempunyai nilai gizi yang sangat tinggi dan merupakan sumber protein hewani asal ternak yang utama disamping bahan makanan lain(Forrest *et al.*, 1975). Berdasarkan S.K. Menteri Pertanian No. 413/Kpts/TN.310/7/1992, definisi daging adalah bagian dari hewan potong yang disembelih termasuk isi rongga perut dan dada yang lazim dikonsumsi manusia, sedangkan karkas adalah bagian dari hewan potong yang disembelih setelah kepala dan kaki dipisahkan, dikuliti, serta isi rongga perut dan dada dikeluarkan (Soeparno, 2005).

Daging dapat mudah rusak karena kandungan air dan protein yang tinggi serta derajat asam yang baik, sehingga menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme dan jamur (Soeparno, 2005). Menurut Lay dan Hastowo (1992) 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), yang mana semua bahan nutrisi tersebut terkandung di dalam daging sapi.

Komposisi di dalam daging memiliki persyaratan untuk perkembangan mikoorganisme antara lain mempunyai kadar air tinggi, kaya akan zat yang mengandung nitrogen dengan komposisi kompleksitas yang berbeda, mengandung sejumlah karbohidrat yang dapat difermentasikan, kaya akan mineral untuk kelengkapan pertumbuhan kuman, serta tingkat keasaman (pH 5,3-6,5) sesuai untuk perkembangan kuman (Soeparno, 2005).

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 air dan berbagai jenis garam (Tyasningsih dan Suryanie, 1999).

Banyak kuman ditemukan pada daging sapi yang semakin lama disimpan jumlahnya semakin meningkat, dan daging tersebut menjadi mudah busuk karena aktivitas kuman, menunjukkan bahwa daging sapi mengandung cukup banyak bahan yang diperlukan untuk pertumbuhan kuman, sehingga dari ekstrak daging sapi dapat dibuat media pertumbuhan kuman (Tyasningsih dan Suryanie, 1999).

II.3. Kacang Hijau

II.3.1. Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi kacang hijau menurut Rukmana (1977),

Kindom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dycotyledonae

Ordo : Leguminales

Famili : Leguminosae

Genus : Phaseolus

Spesies : *Phaleolus aureus*

Dengan sinonimnya *P. radiaatus L.*

Morfologi kacang hijau berdasarkan Rukmana (1977), terdiri atas akar, batang, daun bunga, buah dan biji. Perakaran tanaman kacang hijau bercabang banyak dan membentuk bintil (nodula) akar. Makin banyak nodula akar, makin tinggi kandungan nitrogen (N) sehingga menyuburkan tanah. Biji kacang hijau berbentuk bulat kecil dengan berat 0,5 – 0,8 miligram per butir atau berat per 1000 butir antara 36 – 78 gram, berwarna hijau sampai hijau tua.

II.3.2. Kandungan biji dan kegunaannya

Menurut Rukmana (1997) nilai nutrisi kacang hijau per 100 g adalah kalori 345 kal, protein 22 g, lemak 1,2 g, karbohidrat 62,9 g, kalsium 125 mg, besi 7,7 mg, fosfor 340 mg, natrium 6 mg, kalium 141 mg, vitamin A 157 SI, vitamin B_1 0,64 mg, vitamin C 6 mg dan air 10 g. Protein kacang hijau mengandung asam amino esensial berupa isoleosin 6,95 %, leusin 12,90 %, lysin 7,95 %, methionin 0,84 %, phenylalanin 7,07 %, threonin 4,50 %, valin 6,23 %, tryptophan 1,35% dan asam amino non essensial berupa alanin 4,15 %, arginin 4,44 %, asam aspartat 12,10 %, asam glutamat 17 %, dan tyrosin 3,86 %.

Kacang hijau telah digunakan dalam beberapa penelitian, Rahayu dkk. (1993) telah menggunakan sari kacang hijau sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan kuman *Acetobacter xylinum,* selanjutnya Dyahwahyuningapsari (1998) juga berhasil menumbuhkan kuman yang sama pada media yang mengandung kacang hijau, kemudian dilanjutkan Tyasningsih dkk. (2001) menggunakan ekstrak daging sapi yang ditambah sari kacang hijau untuk pembuatan media pertumbuhan beberapa kuman.

Kacang hijau selain berguna untuk kesehatan tubuh, juga berkhasiat sebagai obat tradisional, misalnya untuk obat beri – beri. Tanaman kacang hijau juga sangat baik dijadikan vegetasi atau penutup tanah yang berfungsi menyuburkan tanah karena kandungan nitrogen yang tinggi pada akarnya (Tyasningsih dkk., 2001).

II.4. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Merchant dan Packer (1978):

- Kingdom : Plant
- Filum : Schizomycetes
- Ordo : Eubacteriates
- Famili : Micrococcus
- Genus : Staphylococcus
- Species : *Staphylococcus aureus*

Kuman *Staphylococcus aureus* berbentuk kokus atau bulat, susunannya berpasangan dan bergerombol seperti buah anggur, aerob atau fakultatif anaerob, oksidase negatif, non motil, tidak berflagella, tidak membentuk spora dan bersifat Gram positif. Kuman ini dapat tumbuh dengan suhu optimum 37°C dan PH 7,2 (Joklik *et al.*, 1986).

Koloni *Staphylococcus aureus* pada *nutrient agar* tampak berwarna kuning keemasan, koloni bulat, halus, licin, cembung, bertepi rata dan mengkilap. Pada *manitol salt agar* koloni ini memfermentasi manitol sehingga yang semula berwarna merah berubah menjadi kuning. *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil positif pada uji katalase, memproduksi asam laktat dan memfermentasi lambat karbohidrat, selain itu dapat menghasilkan enzim koagulase, hyaluronidase, stafilokinase (fibrinolisin), lipase dan protease. (Jawetz *et al.*, 1995 ; Lay dan Hastowo, 1992). Pada medium selektif *baird parker medium* kuman membentuk koloni yang berwarna hitam mengkilap di tengah dengan pinggir jernih, dan dikelilingi dengan zona sempit juga berwarna jernih di sekelilingnya (Merchan dan Parker, 1978).

Toksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah toksin ektraseluler yang meliputi toksin alfa, toksin beta, toksin teta, enterotoksin, leukosidin dan toksin epidermolitik (Joklik *et al.*, 1986 ; Jawetz *et al.*, 1995 ; dan Kuswanto, 1988).

Sumber utama penularan kuman *Staphylococcus aureus* adalah tubuh manusia. Sebagian besar wabah keracunan makanan oleh kuman ini disebabkan karena cemaran dari tangan manusia atau anggota badan lainnya seperti hidung,

mulut, atau luka infeksi ditangan pekerja yang memproses bahan makanan (Kuswanto, 1988 ; Saleh, 1988).

Kuman Staphylococcus dapat menghasilkan enzim koagulase. Enzim ini juga menyebabkan *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan subur dalam serum dan tahan terhadap beberapa bahan yang bersifat antibakterial (Lay dan Hastowo, 1992). *Staphylococcus aureus* tahan pengeringan dan panas, tetap hidup pada suhu 50°C selama 30 menit, peka terhadap 1% fenol selama 35 menit dan 10% formaldehid selama 10 menit. Kuman ini dapat bertahan lama pada debu dan makanan yang didinginkan sampai beku. *Staphylococcus aureus* juga toleran terhadap garam empedu dan tahan terhadap garam natrium klorida 9 % (Joklik *et al.*, 1986 ; dan Jawetz *et al.*, 1995).

II.5. *Bacillus subtilis*

Merchant dan Packer (1978) *Bacillus subtilis* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plant*

Phylum : *Thallophyta*

Class : *Schizomycetes*

Order : *Eubacteriales*

Family : *Bacillaceace*

Genus : *Bacillus*

Species : *Bacillus subtilis*

Bacillus subtillis menurut Merchant dan Parker (1970) ; dan Joklik *et al.* (1986) berbentuk silinder, tersusun tunggal atau berantai dengan diameter 1 μm dan panjang 3-4 μm. Kuman ini bersifat Gram positif, motilitasnya menggunakan flagella peritrichus. Membentuk spora berbentuk oval dan terletak sentral. Sel vegetatifnya segera hilang setelah spora terbentuk.

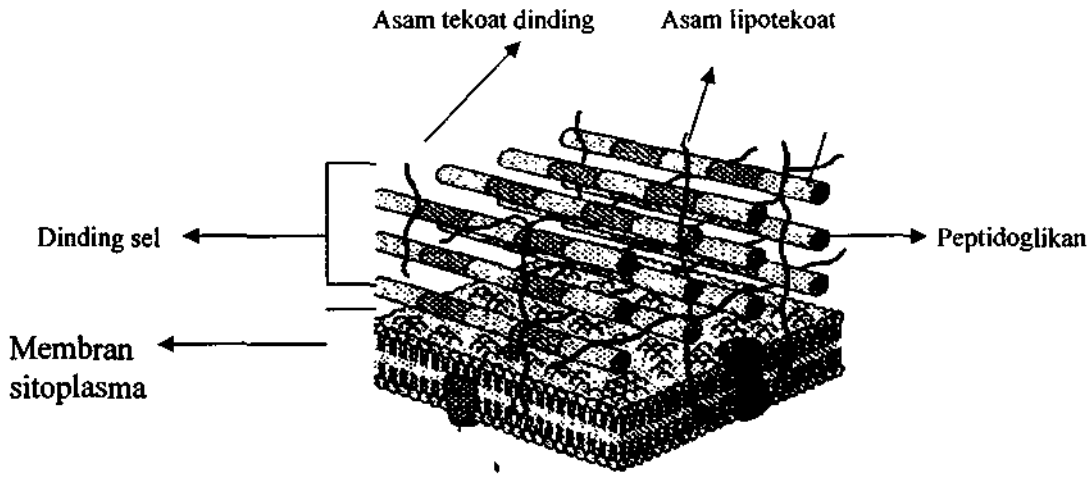
Bacillus subtilis dapat tumbuh pada beberapa medium dan merupakan kuman pencemar utama di laboratorium mikrobiologi. Kuman ini membentuk asam dari fermentasi glukosa, sukrosa dan maltosa. Uji *metal red negatif* tetapi uji *voges proskauer* hasilnya positif. *Bacillus subtillis* dapat menghasilkan subtillin yang berefek sebagai antibiotik. Selain itu kuman *Bacillus subtillis* juga tahan terhadap panas karena dapat membentuk spora. Oleh karena bentuk spora inilah kuman ini mudah tersebar dan mencemari berbagai tempat.(Merchant dan Parker, 1978 ; Lay dan Hastowo, 1992).

II.6. Dinding kuman

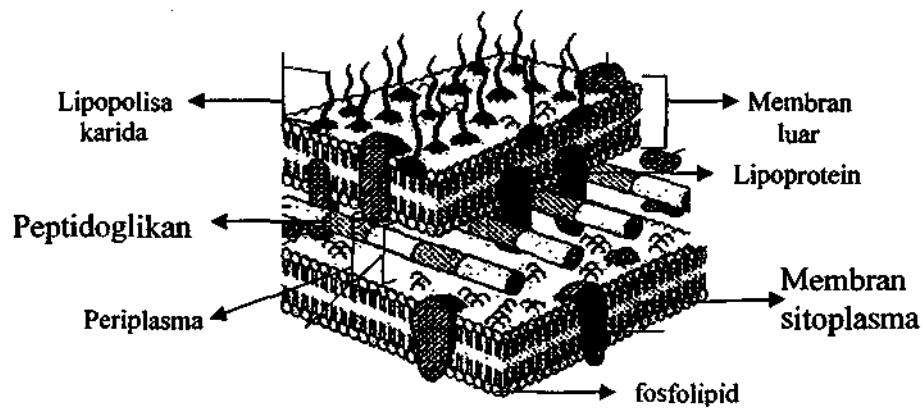
Berdasarkan respon terhadap pewarnaan Gram, kuman diklasifikasikan sebagai kuman bersifat Gram positif dan Gram negatif. Perbedaannya terletak pada susunan dinding selnya. Pada dinding sel kuman Gram positif sebagian besar terdiri dari polisakarida yang tidak larut alkohol, sedangkan dinding sel kuman Gram negatif sebagian besar tersusun atas lipopolisakarida (LPS) yang larut dalam alkohol (Merchant dan Parker, 1978 ; Joklik *et al.*, 1986).

Menurut Lay dan Hastowo (1992), kuman Gram positif memiliki dinding sel dengan struktur satu lapis yang tebal sedangkan pada kuman Gram negatif

dinding selnya mempunyai struktur berlapis dengan kandungan lipid lebih tinggi dari pada kuman Gram positif. Meskipun strukturnya berbeda, susunan kimia dari dinding kedua kelompok kuman ini tidak menunjukkan perbedaan yang mencolok. Bagian dinding sel yang memberikan sifat kaku ini disebut peptidoglikan yang terdiri dari murien dan mukopeptida. Peptidoglikan membentuk suatu anyaman yang kuat dari dinding sel, sehingga dapat menahan tekanan dari luar. Oleh sebab itu fungsi utama dinding sel adalah melindungi sel dari tekanan osmose. Dinding sel kuman Gram negatif lebih kompleks dibandingkan dinding sel kuman Gram positif. Perbedaan utamanya adalah adanya lapisan membran luar, yang menyelimuti peptidoglikan. Kehadiran membran ini menyebabkan dinding sel kuman Gram negatif kaya akan lipida. Lapisan membran luar ini mempunyai struktur berupa membran yang terdiri dari fosfolipid, lipida lainnya, polisakarida dan protein. Lipida dan polisakarida berhubungan erat membentuk struktur khas disebut lipopolisakarida (LPS). Diperkirakan adanya LPS mengakibatkan kuman Gram negatif lebih tahan terhadap detergen anionik yang kerjanya merusak lipoprotein dari membran. Lipopolisakarida akan melindungi membran luar kuman terhadap detergen. Rusaknya membran luar tidak langsung menimbulkan lisisnya kuman Gram negatif karena masih ada membran dalam. Ditambahkan oleh (Jawetz *et al.*, 1995) oleh karena dinding yang tersusun berlapis menyebabkan kuman Gram negatif lebih tahan terhadap sebagian besar antibiotik.



Gambar II.2. Dinding sel bakteri gram positif (Tortora *et al.*, 2002)



Gambar II.3. Dinding sel bakteri gram negatif (Tortora *et al.*, 2002)

BAB III

MATERI DAN METODE

Multi Jasa

BAB III
MATERI DAN METODE

III.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian mulai bulan Juli sampai dengan Agustus 2005.

III. 2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan antara lain :

a. Bahan untuk penelitian utama berupa cairan empedu ayam, daging sapi, kacang hijau dan *agar base*.
b. Isolat kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*
c. Bahan untuk menguji sifat kuman berupa :
   - Pewarnaan Gram terdiri atas zat warna gentian violet, aseton, garam iodin dan zat warna safranin.
   - *Methylen blue* sebagai zat pewarnaan sederhana.
d. Bahan yang digunakan untuk identifikasi terdiri dari *nutrient agar*, *manitol salt agar*, larutan H_2O_2 3 %.
e. Bahan penunjang berupa kapas, alkohol, *aluminium foil*, NaCl fisiologis dan aquades steril.

III. 3. Alat penelitian

Beberapa alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Petri disk*, ose steril, *object glass*, mikroskop, pemanas bunsen, tabung reaksi, rak tabung reaksi,

labu erlenmeyer, kapas steril, kasa steril, spuit steril, *autoclave*, inkubator, pipet satu ml, blender, jangka sorong dan timbangan analitik Sartorius.

III.4. Metode Penelitian

III.4.1. Pengujian sifat-sifat kuman

III.4.1.1. Identifikasi sifat *Staphylococcus aureus*

Pembuktian bahwa kuman yang akan digunakan adalah isolat *Staphylococcus aureus*, maka dilakukan dengan berbagai uji spesifik. langkah pertama, isolat kuman ditumbuhkan pada *mannitol salt agar (*MSA) dengan cara menggoreskan pada permukaan media, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan kuman diamati dengan melihat bentuk, warna dan sifat koloni. Pada *mannitol salt agar*, koloni *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, dan berwarna kuning cerah. Koloni yang diduga *Staphylococcus aureus* tersebut selanjutnya diperiksa secara mikroskopik untuk melihat bentuk, susunan dan sifat pewarnaan Gram. Pemeriksaan mikroskopik kuman *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat bergerombol, non motil dan bersifat Gram positif. Sifat Gram positif diketahui dari kuman yang berwarna biru atau violet.

Kuman dilanjutkan identifikasi dengan uji katalase. Uji katalase dilakukan dengan cara *slide test*, yaitu larutan H_2O_2 3% diteteskan diatas *object glass*. Biakan kuman murni yang diuji dimasukkan dalam larutan H_2O_2 dengan menggunakan ose dan diamati adanya gelembung udara yang terbentuk.

III. 4.1.2. Identifikasi sifat *Bacillus subtilis*

Pengujian isolat *Bacillus subtilis* juga dilakukan berbagai uji atau pemeriksaan spesifik. Pertama kuman diinokulasikan dengan cara *streak* pada media *nutrient agar*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Amati pertumbuhan *Bacillus subtilis* dengan melihat bentuk, warna, pinggir dan tekstur koloni. Pada *nutrient agar* koloni *Bacillus subtilis* akan berbentuk bulat besar, kasar, pinggir tidak rata, kadang menyebar. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan mikroskopis untuk melihat motilitas kuman dari preparat natif, pengamatan bentuk dan susunan kuman dengan pemeriksaan pewarnaan sederhana dengan *methylen blue*, serta pemeriksaan mikroskopik pada pewarnaan Gram. Pada pemeriksaan preparat langsung *Bacillus subtilis* akan terlihat motil, sedangkan dengan pewarnaan *methylen blue* maka kuman akan berbentuk batang besar berantai dengan ujung tumpul. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan kuman bersifat Gram positif. *Bacillus subtilis* dapat dibedakan dengan uji fermentasi manitol. Hasilnya *Bacillus subtilis* akan memfermentasi manitol. Sedangkan *Bacillus cereus* tidak menfermentasikan manitol (Jang *et al.*, 1980).

III.4.2. Pembuatan Media

III.4.2.1. Mempersiapkan cairan empedu ayam

Cairan empedu ayam diambil dari kandung empedu ayam. Sebelum diambil kantung empedu dibersihkan dengan air, lalu diangkat dan dibiarkan sebentar supaya air mengering. Pengambilan dilakukan dengan ditusuk dan diisap menggunakan spuit steril dan dimasukkan ke tabung steril.

III.4.2.2. Mempersiapkan ekstrak daging sapi

Ekstrak daging sapi dibuat dari daging sapi yang baik dengan lemak dan fascia yang menempel dibuang. Pembuatannya dengan cara memotong daging sapi sekecil mungkin, lalu dihancurkan sampai halus menggunakan blender. Daging dimasukkan lemari es selama 24 jam. Selanjutnya daging ditambahkan larutan NaCl fisiologis dengan perbandingan satu kilogram daging sapi dicampurkan dua liter larutan, kemudian direbus sampai mendidih selama 20 menit. Langkah selanjutnya daging diperas, air hasil perasan didinginkan ke dalam lemari pendingin, tujuannya memberi kesempatan penggumpalan lemak di permukaan (Tyasningsih dan Suryanie, 1999). Lemak yang terbentuk dibuang. Cairan daging diuapkan pada suhu 80° C hingga terbentuk pasta.

III.4.2.3. Mempersiapkan Sari Kacang Hijau

Kacang hijau dipilih dari biji kacang hijau yang tua dan baik, dengan melihat warna dan bentuknya. Pemilihan dilakukan secara manual yaitu kacang hijau yang berwarna hijau tua dan berbentuk bundar, mengkilap, tidak gepeng dan tidak mengkerut. Kacang hijau terlebih dahulu dicuci dengan air bersih, sisa kulit buah dan kotoran lainnya dibuang. Selanjutnya kacang hijau dikeringkan pada udara terbuka. Setelah kering direbus dalam air dengan perbandingan satu kilogram kacang hijau digunakan dua liter air. Perebusan dilakukan sampai kacang hijau kelihatan pecah secara merata, kemudian diblender sampai halus, lalu diperas menggunakan kain dan disaring juga dengan menggunakan kain.

Kemudian sari kacang hijau hasil perasan direbus kembali sebelum disimpan dan digunakan (Rahayu dkk., 1993 ; Tyasningsih dkk., 2001).

III.4.2.4. Pembuatan media campuran dari ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam

Petri disk sebanyak 24 buah dibagi menjadi dua media. Media pertama dibuat dari komposisi sebagai berikut 0,8 % ekstrak daging sapi, 1,5 % *agar base*, 20 % sari kacang hijau dalam volume keseluruhan 1000 ml air destilasi. Pembuatan media kedua dengan komposisi sama seperti media pertama dengan penambahan 7 % cairan empedu ayam (Suryanie, 1997 ; Tyasningsih dkk., 2001).

Media perlakuan pertama (P_1) : (8 gram ekstrak daging + 15 gram agar base + 200 ml sari kacang hijau + dalam 1000 ml aquades)

Media perlakuan kedua (P_2) : (8 gram ekstrak daging + 15 gram agar base + 200 ml sari kacang hijau + 70 ml cairan empedu ayam dalam 1000 ml aquades)

Media perlakuan dibuat dengan cara masing-masing dari kedua komposisi dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, lalu dipanaskan sampai mendidih dan selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* 121°C tekanan 15 atmosfir selama 15 menit. setelah itu setiap komposisi dituangkan dalam *Petri disk* kemudian ditutup. Setiap *Petri disk* membutuhkan rata-rata 20 ml dari bahan. Media yang telah dituangi bahan dibiarkan mengeras. Media uji sebelum ditanami kuman, terlebih

dahulu dilakukan uji sterilitas dengan cara membiarkan media yang telah jadi tersebut dalam inkubator suhu 37°C selama 24 jam.

III.4.3. Menguji hambatan cairan empedu ayam terhadap pertumbuhan kuman pada media uji.

III.4.3.1. Persiapan inokulat kuman yang akan ditanam

Masing – masing inokulat kuman dipersiapkan untuk mendapatkan jumlah sel kuman kurang lebih 10^8 sel per ml, dengan cara mensuspensikan lima koloni kuman ke dalam lima ml *mueller hinton infusion* (MHI), kemudian disetarakan dengan larutan standar *Mc Farland* nomor satu. Apabila kekeruhan suspensi kuman terlalu keruh dapat ditambahkan dengan larutan MHI, sedangkan tingkat kekeruhan suspensi kuman yang kurang keruh, suspensi kuman dapat diinkubasi pada suhu 37° C sampai kekeruhannya sebanding dengan larutan *Mc Farland* tersebut. Suspensi kuman yang sudah disetarakan dengan larutan *Mc Farland* nomor satu sebanding suspensi kuman dengan jumlah 3 X 10^8 sel per ml sehingga perlu tiga kali untuk mendapatkan suspensi kuman dengan jumlah 10^8 sel per ml. Suspensi inilah yang digunakan untuk pengujian daya hambat cairan empedu ayam pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau (Seeley dan Van Demark, 1990)

III.4.3.2. Penanaman inokulat kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* pada media uji.

Kuman yang telah dipersiapkan dengan jumlah 10^8 sel per ml terlebih dahulu diencerkan hingga mencapai kuman sejumlah 10^2 sel per ml. Pengenceran

dilakukan untuk mendapatkan jumlah koloni yang dapat dihitung (20 – 200 koloni) dalam *Petri disk* (Seeley dan Van Dermark, 1990).

Media yang telah siap diinokulasi dengan masing-masing 0,1 ml kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dari suspensi yang telah disiapkan. Suspensi kuman diteteskan pada permukaan media menggunakan pipet steril. Selanjutnya disebarkan dengan spreader (tongkat bengkok). Media dibiarkan beberapa saat supaya suspensi kuman berdifusi dengan media, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Hambatan pertumbuhan kuman dapat dihitung dari jumlah dan diameter koloni kuman yang tumbuh pada media dengan penambahan cairan empedu ayam (P2) dibandingkan dengan media tanpa penambahan cairan empedu ayam (P1).

III.5. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan dua perlakuan masing-masing sebanyak enam kali ulangan.

III.6. Variabel yang diamati

Variabel yang diamati adalah jumlah dan diameter koloni kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media yang digunakan untuk pengujian.

III.7. Analisis data

Data kuantitatif dari hasil penghitungan jumlah dan diameter koloni kuman yang tumbuh dianalisis secara statistik menggunakan uji t dua sampel bebas dengan probabilitas 0,05 (Kusriningrum, 1989; Sudjana, 1992).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Multi Jasa

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Setelah melakukan penelitian tentang daya hambat empedu ayam terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* pada media ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel IV.1. Rata-rata jumlah koloni kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam. (koloni)

JENIS KUMAN	JENIS MEDIA PERTUMBUHAN	
	EDS + SKH (P_1)	EDS + SKH + CEA (P_2)
Staphylococcus aureus	$103,83 \pm 3,920^a$	$39,50 \pm 2,345^b$
Bacillus subtilis	$87,83 \pm 6,210^a$	0^b

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukan perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p<0,05$)

EDS = 0,8 % Ekstrak Daging Sapi CEA = 7 % Cairan Empedu Ayam
SKH = 20 % Sari Kacang Hijau

Tabel IV.2. Rata-rata diameter koloni *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam. (milimeter)

JENIS KUMAN	JENIS MEDIA PERTUMBUHAN	
	EDS + SKH (P_1)	EDS + SKH + CEA (P_2)
Staphylococcus aureus	$1,51 \pm 0,058^a$	$0,68 \pm 0,088^b$
Bacillus subtilis	$5,46 \pm 0,107^a$	0^b

Dari hasil penelitian terlihat bahwa kuman *Staphylococcus aureus* yang ditumbuhkan pada media yang ditambah cairan empedu ayam (P_2) ($39,50 \pm 2,345$ koloni), menunjukkan penurunan jumlah koloni kuman yang tumbuh jika dibandingkan dengan media yang tidak ditambah cairan empedu ayam (P_1)

(103,83 ± 3,920 koloni). Hasil pengukuran diameter rata – rata kuman *Staphylococcus aureus* pada media P_2 (0,68 ± 0,088 milimeter) menunjukkan ukuran diameter koloni kuman lebih kecil dibandingkan pada media P_1 (1,51 ± 0,058 koloni).

Penghitungan kuman *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media P_1 (87,83 ± 6,210 koloni) dengan diameter (5,46 ± 0,107 milimeter). Sedangkan pada media yang ditambahkan cairan empedu ayam (P_2), dengan pengamatan langsung tidak terlihat koloni kuman yang tumbuh sehingga tidak dihitung jumlah dan diameter koloni kuman yang tumbuh.

Berdasarkan hasil perhitungan analisis statistik menggunakan uji t dua sampel bebas (lampiran 1 - 4) menunjukan bahwa pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* maupun *Bacillus subtilis* pada media dengan penambahan cairan empedu ayam (P_2) berbeda nyata ($p<0,05$) dengan media tanpa ditambah cairan empedu ayam (P_1).

BAB V

PEMBAHASAN

Multi Jasa

BAB V
PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, rata-rata jumlah koloni kuman *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah cairan empedu ayam (P_2) 39,50 ± 2,345 koloni, pada media yang sama tanpa ditambah cairan empedu ayam (P_1) rata-rata 103,83 ± 3,920 koloni. Penambahan cairan empedu ayam pada media campuran tersebut dengan penambahan cairan empedu ayam (P_2) dengan pengamatan langsung tidak ditemukan koloni kuman *Bacillus subtilis* yang tumbuh, tetapi pada media yang sama dengan tidak ditambah cairan empedu ayam (P_1) rata-rata koloni yang tumbuh 87,83 ± 6,210 koloni.

Hasil perhitungan rata-rata diameter koloni kuman *Staphylococcus aureus* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau ditambah cairan empedu ayam (P_2) menunjukkan 0,68 ± 0,088 milimeter, pada media yang sama tanpa penambahan cairan empedu ayam (P_1) rata-rata diameter koloni 1,51 ± 0,058 milimeter. sedangkan diameter koloni kuman *Bacillus subtilis* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau tanpa penambahan cairan empedu ayam (P_1) rata-rata 5,46 ± 0,107 milimeter, untuk media sama dengan ditambah cairan empedu ayam (P_2) tidak dilakukan pengukuran sebab tidak ditemukan koloni kuman dengan pengamatan secara langsung. Dari analisis statistik ini terbukti bahwa pertumbuhan koloni kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang

hijau dengan perlakuan ditambah dan dengan tidak ditambah cairan empedu ayam menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Pemberian cairan empedu ayam yang mengandung garam empedu didalamnya terbukti efektif melawan bakteri Gram positif. Sebab bakteri Gram positif mempunyai susunan membran tunggal, sehingga lebih mudah mengalami gangguan pada kerangka lipoprotein membran selnya. Bakteri Gram positif mempunyai peptidoglikan yang tebal pada membran selnya dengan banyak mengandung protein. Garam empedu dengan bagian yang terlarut dalam lemak dan berstruktur steroid merupakan detergen yang bersifat anion. Detergen dapat mendenaturasi protein, sehingga garam empedu yang bersifat detergen dapat mendenaturasi protein (Volk dan Wheller, 1992 ; Jawetz *et al.*, 1995).

Garam empedu yang mempunyai aktivitas sebagai agen aktif pada suatu permukaan dengan sifat terkonsentrasi pada bagian antar permukaan. Menurut Joklik *et al.* (1986), agen aktif permukaan adalah substansi yang merubah hubungan energi antar permukaan sehingga menghasilkan penurunan tegangan permukaan.

Garam empedu mempunyai dua bagian struktur kimia yaitu rantai hidrokarbon panjang yang akan larut dalam lemak sedangkan struktur yang berion larut dalam air. Dengan susunan kimia seperti itu, maka kemampuan garam empedu untuk menurunkan tegangan permukaan bakteri Gram positif akan lebih efektif jika dibandingkan bakteri Gram negatif. Hal ini disebabkan susunan dinding sel bakteri Gram positif mengandung lipid 10 persen sehingga bagian hidrokarbon yang panjang akan langsung dapat berikatan dengan lipid yang

sedikit pada membran sel kuman. Kondisi ini menyebabkan garam empedu dapat bekerja efektif pada bakteri Gram positif sedangkan bakteri Gram negatif mempunyai strukur dinding sel liposakarida lebih banyak (90 persen).

Menurut Jawetz *et al.* (1986) asam empedu merupakan zat yang dapat berfungsi sebagai detergen anionik. Dikatakan detergen anionik karena pada pH fisiologi asam empedu terionisasi dan mengembangkan sifat detergan (Devlin, 1992). Joklik *et al.* (1986) dan Jawetz *et al.* (1995) mengatakan di antara senyawa yang termasuk dalam detergen anionik adalah sabun dan asam lemak yang terionisasi untuk menghasilkan muatan ion negatif, kedua senyawa detergen anionik tersebut lebih aktif pada pH asam, dan lebih efektif terhadap kuman Gram positif dari pada kuman Gram negatif, sedangkan menurut Wirahadikusumah (1985) dan Caret *et al.* (1993) sabun sendiri merupakan hasil dari hidrolisa trigliserida dalam suasana alkalis, dan asam lemak adalah hasil hidrolisis trigliserida dalam suasana asam dengan hasil kedua adalah gliserol. Dengan demikian berarti adanya asam lemak dapat meningkatkan daya hambat cairan empedu terhadap kuman, karena asam empedu sendiri bekerja lebih aktif pada pH asam, dimana pH 6,3 – 6,6 merupakan pH efektif untuk menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*.

Daya hambat cairan empedu ayam konsentrasi 7 % terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang mendekati daya hambat garam empedu standar yang dipakai pada media selektif *Salmonella Shigella agar* dan *Mac Conkey agar,* menandakan bahwa konsentrasi cairan empedu ayam 7% tersebut dapat

diandalkan sebagai penghambat kuman *Staphylococcus aureus* dalam media selektif (Suryanie, 1997).

Efektifitas cairan empedu ayam lebih besar terhadap *Bacillus Subtilis* dibandingkan *Staphylococcus aureus* disebabkan karena *Staphylococcus aureus* memang lebih toleran terhadap asam empedu. Menurut Oxoid (1982) (dalam Suryanie, 1997) Staphylococcus yang patogen toleran terhadap garam empedu.

Jika dilihat hasil dari analisis statistik (lampiran 1-4) menunjukan bahwa kedua kuman *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh baik pada media ektrak daging sapi dan sari kacang hijau. Dalam penelitian Tyasningsih dkk. (2001), kuman ini dapat lebih subur pada media tersebut dibanding *nutrient agar*. Sedangkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa kuman Gram positif *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* terhambat pertumbuhannya pada media yang sama dengan ditambah cairan empedu ayam.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* terhambat pertumbuhan pada media yang ditambah cairan empedu ayam. Hal ini membuktikan bahwa cairan empedu ayam dapat mempengaruhi pertumbuhan kuman Gram positif, seperti yang dibuktikan pada penelitian sebelumnya pada media yang berbeda, bahwa cairan empedu yang mengandung garam empedu mampu menghambat pertumbuhan kuman Gram positif khususnya *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* serta *Streptococcus faecalis* (Darmawan, 1991; Suryanie, 1997).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Multi Jasa

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah penambahan 7 % cairan empedu ayam pada media 0,8 % ekstrak daging sapi yang ditambah 20 % sari kacang hijau dapat menghambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis.*

VI.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini adalah

1. Media ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau dengan penambahan cairan penghambat empedu ayam dapat digunakan sebagai media pertumbuhan untuk mengisolasi kuman-kuman lain dengan menghambat kuman-kuman Gram positif khususnya kuman pencemar *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis.*yang sering menjadi kendala dalam mengisolasi kuman.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap kuman-kuman dengan sifat yang berbeda dalam upaya penggunaan media ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau dengan penambahan cairan penghambat empedu ayam sebagai media diferensial maupun selektif.

RINGKASAN

M. IKA IQBAL FAHMI. Daya hambat cairan empedu ayam yang ditambahkan pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau terhadap pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Skripsi ini dibawah bimbingan Prof. Dr. H. Sarmanu., M. S., drh. sebagai pembimbing pertama dan Suryanie Sarudji., M.Kes., drh sebagai pembimbing kedua.

Isolasi dan identifikasi mikroorganisme penyebab penyakit, atau keperluan diagnosa penyakit infeksi diperlukan *artificial medium*. Upaya mengurangi ketergantungan bahan-bahan impor perlu dilakukan modifikasi dalam pembuatan media pertumbuhan bakteri dengan menggunakan bahan-bahan yang mudah tersedia dan murah. Media ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau telah digunakan untuk menumbuhkan beberapa kuman.

Cairan empedu dapat digunakan sebagai zat penghambat kuman. Mengingat garam empedu yang terkandung di dalam cairan empedu ayam merupakan zat yang detergen anionik yang efektif menghambat kuman Gram positif.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat cairan empedu ayam terhadap pertumbuhan kuman *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* pada media campuran ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau, sehingga diharapkan media ini teruji untuk menghambat kuman Gram Positif.

Cawan Petri sebanyak 24 buah dibagi menjadi 2 media perlakuan dengan enam ulangan. Media perlakuan pertama (P1) terbuat dari ekstrak daging sapi dan

sari kacang hijau. Media perlakuan kedua (P2) terdiri dari ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah cairan empedu ayam. Masing-masing media perlakuan ditanami dengan kuman *Staphylococcus aureus* dan kuman *Bacillus subtilis* dengan menggunakan metoda spread yang diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Variabel yang diamati adalah jumlah dan diameter koloni kuman *Staphylococcus aureus* dan kuman *Bacillus subtilis* pada masing-masing media perlakuan yang berbeda. Data dianalisis menggunakan uji t dua sampel bebas.

Hasil penelitian menunjukkan jumlah dan diameter koloni kuman *Staphylococcus aureus* dan kuman *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media P_2 dibandingkan media P_1 menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Penambahan cairan empedu ayam pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis.* Perlu penelitian lanjutan terhadap kuman dengan sifat berbeda untuk penggunaan sebagai media deferensial maupun selektif.

DAFTAR PUSTAKA

Multi Jasa

DAFTAR PUSTAKA

Boyd R. F., and J. W. Marr. 1995. Medical Microbiology. 14st ed. Little, Brown and Company Boston.

Cantarow A., and Trumper M. 1956. Clinical Biologi. 5th ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 535 – 537.

Caret Robert J., Katherine J. D., and Toping J., 1993. Principle and Application of Inorganic Organik and Biological Chemistry. Wrn. C. Brown Publ. Dubuque.

Darmawan Elfan Briska. 1991. Pengaruh beberapa jenis dan Konsentrasi Cairan Empedu Hewan terhadap Pertumbuhan Streptococcus faecalis dan Salmonella pullorum secara in Vitro. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. Pp. 19 – 21,24.

Devlin T. M. 1992. Texbook of Biochemestry with Clinical Correlation. 3rd ed. Wiley-Liss a John Willey & Sons, inc Publication, New York, Toronto, Singapura. Pp. 438 – 440, 447 – 448, 1083 – 1088.

Dyahwahyuningaspari. 1998. Pengaruh Variasi pH Cairan Fermentasi dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau pada Fermentasi Whey Oleh Acetobacter Xylinum terhadap Ketebalan dan Organoleptik Nata De Milko. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Forrest J. C., Aberle E, D., Henrich H. B., Judge M. D., and Merkel R. A. 1975. Principle of Meat Science. 1st Ed. Freeman and Co. San Fransisco. USA.

Ganong W. F. 2003. Medical Physiology. 20th ed. Appleton and Lang, California. USA

Jang S. S., E. L. Biberstein and D. C. Hirsh. 1980. A Diagnosa Manual of Veteriner Clinical Bacteriology and Micology. Peradeniya, California. USA.

Jawetz. E., J. L. Melnick and E. A. Adelberg. 1995. Review of Medical Microbiology. 22th ed. Lang Medical Publication Drawers L. Los Altos, California.

Joklik W. K., H. P. Willett and D. B. Amos. 1986. Zinsser Microbiology. 18th ed. Appleton – Century – Crofts/Norwalk, Connecticut. 24, 234 – 237, 673 – 678.

Kusriningrum. 1989. Perancangan Percobaan : Rancangan Acak Kelompok, Rancangan Bujur Sangkar, Percobaan Faktorial. Universitas Airlangga. Surabaya. 92 – 97.

Kuswanto K. R. 1988. Toksik Mikrobia. Kursus Mikrobiologi Pangan, PAU Pangan dan Gizi. UGM Yogyakarta.

Lay B. W. dan Hastowo. 1992. Mikrobiologi. Rajawali Press. Jakarta. 10: 27 – 71.

Mathews C.K. and Van Holde K.E. 1990. Biochemistry. The Bejamin/ Cummings Publishing Company, Inc. California.

Merchant I. A., and R. A. Parker. 1978. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa. USA.

Oser B. L. 1965. Hawk's Physiological Chemestry. 14th ed. Mc Graw-Hill Book Company, New York. 490 – 492.

Oxoid. 1982. The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients and other Laboratory Services. 15th ed. Oxid Limited. 62 – 64, 178 – 185, 273.

Pelczar M. J., and E. C. S. Chan,. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. Mc Graw-Hill Book Company, Universitas Indonesia Press. 446 – 507, 808 – 813.

Rahayu E. S. R. Indrati T., Utami E.m., Harmayani M. N., Cahyono. 1993. Bahan Pangan Hasil Fermentasi. Food and Nutrition Culture Collection (FNCC). Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Rukmana R. 1997. Kacang Hijau – Budi Daya dan Pasca Panennya. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. P. 17.

Saleh S. 1988. Staphylococcus aureus. Kursus Mikrobiologi Pangan. PAU pangan dan Gizi, UGM. Yogyakarta.

Seeley H.W., and Van Dermark P.J. 1990. Selected Exercises From Microbes in Action. 10th ed. W.H. Freeman and Company. San Fransisco.

Soeparno. 2005. Ilmu dan Teknologi Daging. Edisi ke-4. Gadjah Mada University Press. Yoyyakarta.

Solomon E. P., and P. W. Davis. 1983. Human Anatomy and Fisiology. Sounders College Publishing. Pp. 596 – 599.

Southerland W. M. 1990. Biochemistry. 1st ed. Churchill Livingstone Inc. Pp. 149 – 151.

Sudjana. 1992. Metode Statistika. Edisi ke – 5. Penerbit Tarsito – Bandung.

Sung J.Y., Costerton, J. W. and Shaffer, E. A. 1992. Defense System in The Biliary Tract Against Bacterial Infection Compact. Combridge.

Suryanie. 1997 Studi Daya Hambat Cairan Empedu Ayam Terhadap Pertumbuhan Bacillus subtillis, Staphylococcus aureus dan Escherichia colli Dalam Upaya Mendapatkan Media Agar Nutrien Yang Selektif Untuk Staphylococcus aureus dan Atau Escherichia colli. Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar. Universitas Airlangga. Surabaya. 50 : 70.

Tyasningsih W. dan Suryanie. 1999. Pembuatan Media Pertumbuhan Beberapa Kuman dari Ekstrak Daging Sapi. Media Kedokteran Hewan. Vol. 15. No. 4. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Tyasningsih W., Chusniati Sri, dan Sarudji Suryanie. 2001. Pembuatan Media Pertumbuhan Beberapa Kuman Dari Ekstrak Daging Yang Ditambah Sari Kacang Hijau. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Tortora G. J. and N. P. Anagnostakos. 1990. Principles of Anatomy and Physiology. 6th ed. Harper & Row, Publishers, New York, London, Tokyo, Sydney. P. 757.

Tortora, G. J., Funke, B. R., and Case, C. L.2002. Microbiology An Introduction. Seventh Edition. Pearson Education. Inc., USA.

Volk W.A., and Wheller M.F., 1992. Microbiologi Dasar. 5th ed. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Wardanie, S. 1999. Diagnosa Dini Penyakit Pada Peternakan Unggas. http//: www. Suaramerdeka.com./publikasi/ilmiah/penyakit/artikel11.htm.

Warsito. 2005. Peternakan Harus Menjadi Unggulan. Penerbit Permata Wacana Lestari. Jakarta.

LAMPIRAN

Multi Jasa

Lampiran 1 Rata-rata jumlah koloni kuman *Staphylococcus aureus* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam

Ulangan	Jumlah Koloni kuman *Staphylococcus aureus* pada media	
	ED + SKH	ED + SKH + CEA
1	105	37
2	109	40
3	103	41
4	107	37
5	100	43
6	99	39
Rata-rata	103,83	39,50

Summarize

Case Summaries [a]

				Pertumbuhan S. aureus
Media	P1 (EDS+SKH)	1		105
		2		109
		3		107
		4		103
		5		100
		6		99
		Total	N	6
			Sum	623
			Mean	103,83
			Std. Deviation	3,920
	P2 (EDS+SKH+CEA)	1		37
		2		40
		3		41
		4		37
		5		43
		6		39
		Total	N	6
			Sum	237
			Mean	39,50
			Std. Deviation	2,345
	Total	N		12
		Sum		860
		Mean		71,67
		Std. Deviation		33,738

a. Limited to first 100 cases.

T-Test

Group Statistics

	Media	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pertumbuhan S. aureus	P1 (EDS+SKH)	6	103,83	3,920	1,600
	P2 (EDS+SKH+CEA)	6	39,50	2,345	,957

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Pertumbuhan S. aureus	Equal variances assumed	2,222	,167	34,497	10	,000	64,333	1,865
	Equal variances not assumed			34,497	8,173	,000	64,333	1,865

Lampiran 2 Jumlah Koloni Kuman *Bacillus subtilis* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam

Ulangan	Jumlah Koloni kuman *Bacillus subtilis* pada media	
	ED + SKH	ED + SKH + CEA
1	86	0
2	82	0
3	94	0
4	80	0
5	95	0
6	90	0
	87,83	0

Summarize

Case Summaries[a]

				Pertumbuhan B. subtilis
Media	P1 (EDS+SKH)	1		86
		2		82
		3		94
		4		80
		5		95
		6		90
		Total	N	6
			Sum	527
			Mean	87,83
			Std. Deviation	6,210
	P2 (EDS+SKH+CEA)	1		0
		2		0
		3		0
		4		0
		5		0
		6		0
		Total	N	6
			Sum	0
			Mean	,00
			Std. Deviation	,000
	Total	N		12
		Sum		527
		Mean		43,92
		Std. Deviation		46,060

a. Limited to first 100 cases.

T-Test

Group Statistics

	Media	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pertumbuhan B. subtilis	P1 (EDS+SKH)	6	87,83	6,210	2,535
	P2 (EDS+SKH+CEA)	6	,00	,000	,000

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Pertumbuhan B. subtilis	Equal variances assumed	24,515	,001	34,644	10	,000	87,833	2,535
	Equal variances not assumed			34,644	5,000	,000	87,833	2,535

Lampiran 3 Ukuran diameter Koloni Kuman *Staphylococcus aureus* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam

Ulangan	Ukuran diameter Koloni kuman *Staphylococcus aureus* pada media	
	ED + SKH	ED + SKH + CEA
1	1,45	0,65
2	1,45	0,85
3	1,60	0,65
4	1,55	0,70
5	1,50	0,65
6	1,50	0,60
Rata-rata	1,508	0,683

Summarize

Case Summaries[a]

				Diameter Koloni S. aureus
Media	P1 (EDS+SKH)	1		1,45
		2		1,45
		3		1,60
		4		1,55
		5		1,50
		6		1,50
		Total	N	6
			Sum	9,05
			Mean	1,5083
			Std. Deviation	,05845
	P2 (EDS+SKH+CEA)	1		,65
		2		,85
		3		,65
		4		,70
		5		,65
		6		,60
		Total	N	6
			Sum	4,10
			Mean	,6833
			Std. Deviation	,08756
	Total	N		12
		Sum		13,15
		Mean		1,0958
		Std. Deviation		,43665

a. Limited to first 100 cases.

T-Test

Group Statistics

	Media	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Diameter Koloni S. aureus	P1 (EDS+SKH)	6	1,5083	,05845	,02386
	P2 (EDS+SKH+CEA)	6	,6833	,08756	,03575

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Diameter Koloni S. aureus	Equal variances assumed	,394	,544	19,195	10	,000	,82500	,04298
	Equal variances not assumed			19,195	8,72	,000	,82500	,04298

Lampiran 4 Ukuran diameter Koloni Kuman *Bacillus subtilis* pada media campuran ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah dan tidak ditambah cairan empedu ayam

Ulangan	Ukuran diameter Koloni kuman *Bacillus subtilis* pada media	
	ED + SKH	ED + SKH + CEA
1	5,35	0
2	5,60	0
3	5,35	0
4	5,40	0
5	5,50	0
6	5,55	0
Rata-rata	5,548	0

Summarize

Case Summaries[a]

				Diameter Koloni B. subtilis
Media	P1 (EDS+SKH)	1		5,35
		2		5,60
		3		5,35
		4		5,40
		5		5,50
		6		5,55
		Total	N	6
			Sum	32,75
			Mean	5,4583
			Std. Deviation	,10685
	P2 (EDS+SKH+CEA)	1		,00
		2		,00
		3		,00
		4		,00
		5		,00
		6		,00
		Total	N	6
			Sum	,00
			Mean	,0000
			Std. Deviation	,00000
	Total	N		12
		Sum		32,75
		Mean		2,7292
		Std. Deviation		2,85143

a. Limited to first 100 cases.

T-Test

Group Statistics

	Media	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Diameter Koloni B. subtilis	P1 (EDS+SKH)	6	5,4583	,10685	,04362
	P2 (EDS+SKH+CEA)	6	,0000	,00000	,00000

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Diameter Koloni B. subtilis	Equal variances assumed	37,813	,000	125,131	10	,000	5,45833	,04362
	Equal variances not assumed			125,131	5,0	,000	5,45833	,04362

Lampiran 5

Gambar pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* pada media ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau dengan penambahan cairan empedu ayam (kiri) dan tidak ditambah cairan empedu ayam (kanan)

Gambar pertumbuhan kuman *Bacillus subtilis* pada media ekstrak daging sapi ditambah sari kacang hijau dengan penambahan cairan empedu ayam (kiri) dan tidak ditambah cairan empedu ayam (kanan).