

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Larutan

1. Pembuatan larutan Nutrien Agar (NA)

Sebanyak 4 g NA dilarutkan dalam 200 ml akuades dan disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media NA di pindahkan ke dalam cawan petri secara aseptis dan didiamkan sampai memadat selanjutnya media siap ditanami.

2. Larutan NaCl fisiologis (0,9%)

Sebanyak 0,9 g NaCl dilarutkan kedalam 100 mL akuades dan disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Larutan NaCl siap digunakan.

3. Larutan standar glukosa

0,01 gram glukosa dilarutkan ke dalam labu takar 100 mL dengan buffer pospat pH 7 (0,05 M) sampai tanda batas

4. Larutan reagen Nelson-Somogyi

- ❖ Reagen A: sebanyak 1,5 g K-Na-Tartarat, 3 g anhidrat Na_2CO_3 , 18 g anhidrat Na_2SO_4 dilarutkan ke dalam 100 mL Aquades dengan pemanasan.
- ❖ Reagen B: sebanyak 1 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan 9 g anhidrat Na_2SO_4 di larutkan kedalam 50 mL akuades, aduk hingga larut semuanya dan teteskan 1-2 tetes H_2SO_4 pekat
- ❖ Reagen Nelson-Somogyi: Larutan reagen A dan reagen B di campurkan dengan perbandingan 4:1

5. Larutan Arsenomolibdat

Sebanyak 13,27 g ammonium molibdat tetrahidrat dilarutkan dalam 200 mL akuades, ditambahkan 10,5 mL H_2SO_4 pekat. Sebanyak 1,5 g disodium hydrogen arsenat dilarutkan dalam 12,5 mL akuades. Lrutan ini dituangkan ke dalam larutan molibdat, lalu diencerkan hingga 250 mL, setelah bercampur baik, larutan ini dituangkan ke dalam botol coklat yang telah dibungkus dengan alumunium foil inkubasi larutan ini pada suhu 37°C. setelah itu simpan

larutan ini ke dalam lemari es tanpa memindahkannya dari botol kaca berwarna coklat. Dalam keadaan ini arsenomolibdat dapat disimpan untuk waktu yang lama.

6. Reagen Lowrey (Reagen C)

- ❖ Reagen A: dibuat 200 mL Na_2CO_3 2% dalam 0,1 M NaOH
- ❖ Reagen B: dibuat 0,5% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 1% natrium kalium tartarat
- ❖ Reagen C: volume sejumlah 50 mL reagen A ditambah dengan 1 mL reagen B

Lampiran 2. Hasil pengamatan pewarnaan Gram

Proses pewarnaan Gram

Larutan dan urutan penggunaannya	Reaksi dan tampang bakteri	
	Gram positif	Gram Negatif
Ungu kristal (UK)	Sel berwarna ungu	Sel berwarna ungu
Larutan yodium (Y)	Kompleks UK-Y terbentuk dalam sel dan sel tetap berwarna ungu	Kompleks UK-Y terbentuk didalam seldan sel tetap berwarna ungu
Alkohol	Dinding sel mengalami dehidrasi, pori-pori menciut daya rembes dinding sel dan membran menurun, UK-Y tak dapat keluar dari sel: sel tetap berwarna ungu	Lipi terekstraksi dari dinding sel, pori-pori mengembang, kompleks UK-Y keluar dari sel menjadi tak berwarna
Safranin	Sel tak terpengaruhi, tetap berwarna ungu	Sel menyerap zat pewarna ini, menjadi warna merah

Lampiran 3. Data pengamatan isolasi bakteri pada media *nutrient agar*

Media	Faktor pengenceran	Jumlah koloni	Volume sampel (ml)	Total Plate Count	Kode Isolat
Nutrien agar	10^{-1}	26	0,1	$26 \times 10^3 \text{CFU/ml}$	S

Perhitungan penentuan *total plate count*

Cara menghitung sel relatif/CFU per ml

$\text{CFU/ml} = \text{jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran}$

Spread plate: koloni = $26 \times 10^2 \text{CFU}/0,1 \text{ ml}$

$$= 26 \times 10^3 \text{ CFU/ml}$$

Lampiran 4. Data pengamatan jumlah sel pada setiap isolat pada media NB

Isolat bakteri	absorbansi	jumlah sel
S-4	0,193	$0,1544 \times 10^9$ cell/ml
S-11	0,836	$0,6688 \times 10^9$ cell/ml
S-12	0,185	$0,148 \times 10^9$ cell/ml
S-15	0,758	$0,6064 \times 10^9$ cell/ml
S-16	0,850	$0,68 \times 10^9$ cell/ml
S-17	0,516	$0,4128 \times 10^9$ cell/ml
S-18	0,703	$0,5624 \times 10^9$ cell/ml
S-22	0,395	$0,316 \times 10^9$ cell/ml
S-25	0,630	$0,504 \times 10^9$ cell/ml
Sp-3	0,547	$0,4376 \times 10^9$ cell/ml

Cara perhitungan penentuan jumlah sel

$OD_{600}=1, \sim 0,8 \times 10^9$ cell/ ml

Diketahui: absorbansi= 0,836

Jumlah sel= $0,836 \times 0,8 \times 10^9$ cell/ml

= $0,6688 \times 10^9$ cell/ml

Lampiran 5.

Biodata Peneliti

Nama : Eva Siagian
NIM : 0603114138
Fak/Jur : MIPA/Kimia
Tempat/Tanggal Lahir : Balige/ 27 Agustus 1988
Jenis Kelamin : Perempuan
Alamat : Jl. Bangau Sakti pond.Palma Panam
Pekanbaru
No. Telp/Hp : 085225645727

Usulan Biaya

No.	Jenis Pengeluaran	Jumlah (Rp.)
1.	Biaya Operasional	250.000,-
2.	Pengadaan Alat dan Bahan Habis Pakai	3.584.500,-
3.	Laporan	500.000,-
4.	Diseminasi, Evaluasi, Monitoring	500.000,-
Jumlah		4.834.500,-