

**UJI PEMBENTUKAN PIGMEN *Pseudomonas aeruginosa*
PADA BERBAGAI MEDIA ISOLASI DENGAN VARIASI
WAKTU INKUBASI**



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH
NANDA GITA DARMA YANI
NIM. 1181077**

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SUKOHARJO
2021**

**UJI PEMBENTUKAN PIGMEN *Pseudomonas aeruginosa*
PADA BERBAGAI MEDIA ISOLASI DENGAN VARIASI
WAKTU INKUBASI**



KARYA TULIS ILMIAH

**DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN JENJANG
PENDIDIKAN DIPLOMA III TEKNOLOGI LABOARATORIUM MEDIS**

**OLEH
NANDA GITA DARMAAYANI
NIM. 1181077**

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SUKOHARJO
2021**

KARYA TULIS ILMIAH

UJI PEMBENTUKAN PIGMEN *Pseudomonas aeruginosa* PADA BERBAGAI MEDIA ISOLASI DENGAN VARIASI WAKTU INKUBASI

Disusun Oleh:
NANDA GITA DARMAYANI
NIM.1181077

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat/sah

Pada 05 Juli 2021

Tim Penguji

Dr. Didik Wahyudi, M. Si

(Ketua)

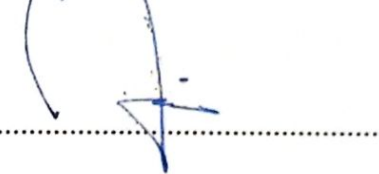
.....

Vector Stephen Dewangga, M. Si

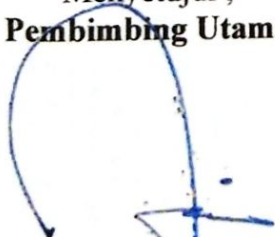
(Anggota)

.....

Ardy Prian Nirwana, S.Pd Bio., M.Si (Anggota).....

.....

Menyetujui,
Pembimbing Utama



Ardy Prian Nirwana, S.Pd Bio., M.Si

Mengetahui,
Ketua Program Studi
DIII Teknologi Laboratorium Medis



Ardy Prian Nirwana, S.Pd Bio., M.Si

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul:

UJI PEMBENTUKAN PIGMEN *Pseudomonas aeruginosa* PADA BERBAGAI MEDIA ISOLASI DENGAN VARIASI WAKTU INKUBASI

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah dipublikasikan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar dilingkungan Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKES Nasional maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 05 Juli 2021



Nanda Gita Darmayani
NIM. 1181077

MOTTO

-Kita memang hanya dapat merencanakan dan mengusahakan.
Selebihnyanya pasrahkan dengan Tuhan. Jangan lupa disertai doa dan
usaha tidak akan mengkhianati hasil.

-Jika kamu benar menginginkan sesuatu, kamu akan menemukan caranya.
Namun jika tak serius, kau hanya akan menemukan alasan. (Jim Rohm)

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini penulis persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya yang telah memberikan kesehatan, kelancaran serta kemudahan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Bapak Pargito dan Ibu Hariyani selaku orang tua saya yang selalu mendoakan, membimbing, memberi nasehat, semangat dan mendukung sekaligus donatur pada penelitian saya.
3. Bapak Ardy Prian Nirwana, S.Pd.Bio., M.Si selaku pembimbing utama yang selalu sabar dalam memberikan arahan, bimbingan semangat, nasehat, motivasi, ide serta memberikan jalan keluar untuk setiap permasalahan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah.
4. Dr. Didik Wahyudi, M. Si dan Bapak Vector Stephen Dewangga, M.Si selaku penguji yang memberikan bimbingan masukan-masukan yang berguna dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah.
5. Ibu Tiara Indah Sulisty, S.Tr. Kes selaku Instruktur Laboratorium yang memandu penelitian.
6. Ibu Noviana Dewi, S.Psi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memberikan semangat kepada anak bimbingannya.
7. Pak Verry dan Ibu Alwina selaku Laboran yang telah sabar memberikan penarahan dan mempersiapkan alat bahan yang digunakan untuk penelitian saya.

8. Tim Bakteriologi (Ajeng, Luluk, Melinda Munazi, Mutiara) yang telah membantu dan bekerjasama selama proses penelitian.
9. Sahabat saya Pager Ayu Neli Yustikarani, Rahmadani Wahyu W, Ryka Indah P, Wulan Budi U, Sintia A, dan Taliya P yang menjadi keluh kesah serta selalu memberikan semangat untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini
10. Kepada Febri Dwi P dan Herlina Setia D keluarga kedua saya dikos dan telah berjuang bersama-sama dari SMK.
11. Kelas 3A3 yang selalu memberikan semangat untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
12. Teman seperjuangan saya yang telah membantu dan mendoakan saya dan memberikan banyak pengalaman dan pelajaran untuk menjadi pribadi yang lebih baik.

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur Penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya yang telah memberikan kesempatan penulis untuk dapat menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini dengan berjudul “Uji Pembentukan Pigmen *Pseudomonas aeruginosa* Pada Berbagai Media Isolasi dengan Variasi Waktu Inkubasi”. Penulisan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini ditunjukkan sebagai tugas akhir dalam pemenuhan persyaratan untuk memperoleh kelulusan Diploma III Teknologi Laboratorium Medis dari Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

Penulis mengakui adanya Kekurangan dan ketidak sempurnaan tulisan ini tidak lepas dari berbagai macam rintangan dan halangan yang selalu datang baik secara pribadi pada penulis maupun teknis pengerjaan selama proses penyusunan laporan. Penulis merasakan semua itu sebagai suatu pujian dan pengalaman yang sangat berharga dalam kehidupan penulis yang kelak Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini dapat memberikan manfaat di kemudian hari. Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dukungan, semangat, dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis berterimakasih kepada:

1. Bapak Hartono, M.Si., Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah memberikan ijin fasilitas kepada penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

2. Bapak Ardy Prian Nirwana, S.Pd.Bio., M.Si selaku Ketua Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis serta dosen pembimbing Karya Tulis Ilmiah yang selalu sabar menerima segala keluh kesah dan memberikan masukan selama proses Karya Tulis Ilmiah.
3. Ibu Tiara Indah Sulistyia, S.Tr.Kes selaku Instruktur Laboratorium yang telah memberikan bimbingan, semangat dan selalu memotivasi selama praktikum dan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Bapak Dr. Didik Wahyudi, M. Si dan Vector Stephen Dewangga, M.Si selaku Penguji yang memberikan masukan-masukan yang berguna dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Teman teman angkatan 2018 serta pihak-pihak yang telah membantu dalam proses penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga karya tulis Ilmiah ini dapat memberikan wawasan dan menambah ilmu kepada pembaca. Saran dan kritik dari segala pihak sangat membantu demi perbaikan dan penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Surakarta, 05 Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	v
PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Pembatasan Masalah	3
C. Rumusan Masalah	3
D. Tujuan.....	3
E. Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Landasan Teori	6
1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
a. Taksonomi	11
b. Morfologi	11
c. Sifat Pertumbuhan	11
d. Biakan	11
e. Patogenesis	11
f. Diagnosa Laboratorium	11

2. Pigmen bakteri.....	11
a. Pigmen Piosianin	11
b. Pigmen Pioverdin.....	12
c. Pigmen Piorubin	12
d. Pigmen Piomelanin berwarna hitam	13
3. Waktu Inkubasi.....	13
4. Media bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
a. <i>Pseudomonas Agar Base (PAB)</i>	14
b. Mac Conkey Agar.....	15
c. Mueller Hinton Agar (MHA).....	15
d. Nutrient Agar (NA).....	16
e. Cetrimide Agar	16
f. M-PA Agar Base.....	17
g. King's medium B Base Agar.....	17
h. Tryptic Soy Agar (TSA/CASO)	18
i. Blood Agar Plate (BAP)	19
j. Brain Heart Infusion (BHI).....	19
B. Kerangka Pikir	20
C. Hipotesis.....	20
BAB III METODE PENELITIAN.....	21
A. Desain Penelitian.....	21
B. Tempat dan Waktu Penelitian	21
C. Subyek dan Obyek Penelitian	22
D. Populasi dan Sampel Penelitian	22
E. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	23
F. Teknik Sampling	24
G. Sumber Data Penelitian.....	24
H. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan).....	25
I. Alur Penelitian	26
J. Teknik Analisis Data Penelitian.....	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
A. Hasil	33
B. Pembahasan.....	38
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	43
A. Simpulan	43
B. Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Uji Biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
3.2 Matriks Pengamatan Pembentukan pigmen <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
3.3 Hasil Uji Pembentukan pigmen <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
4.1 Hasil Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
4.2 Hasil Pengamatan Koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
4.3 Hasil Uji Biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
4.4 Uji Pembentukan pigmen <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi pengecatan gram <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
2.2 Pigmen Pyosianin	12
2.3 Pigmen Pioverdin	12
2.4 Bagan Kerangka Pikir	20
3.1 Bagan Alur Penelitian	26
4.1 Hasil Pengecatan Gram <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
4.2 Hasil Pengamatan morfologi Media MC	35
4.3 Hasil Uji Biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Komposisi Reagen	49
Lampiran 2. Dokumentasi Kegiatan	51

INTISARI

Nanda Gita Darmayani. NIM 1181077. Uji pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai media isolasi terhadap variasi waktu inkubasi.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang mempunyai ciri khas pada media pertumbuhannya yang dapat membedakan dengan bakteri yang lainnya, yaitu pigmen. Faktor yang mempengaruhi pembentukan pigmen adalah sumber nutrisi setiap media isolasi dan lama waktu inkubasi. Tujuan penelitian ini adalah Untuk mengetahui pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* jika di inkubasi pada berbagai media isolasi dengan berbagai variasi waktu.

Penelitian menggunakan desain deskriptif. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi STIKES Nasional dan waktu penelitian dilakukan pada bulan Januari-Mei. Sampel Penelitian ini adalah kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, media Isolasi Tryptic Soy Agar (TSA), Mueller Hinton Agar (MHA), Nutrient Agar (NA), Brain Heart Infussion(BHI) di inkubasi dengan variasi waktu inkubasi 8, 24, 48, 72 dan 75 jam. Teknik sampling yang digunakan adalah Quota Sampling.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa media Tryptic Soy Agar (TSA) merupakan media yang paling baik digunakan dibandingkan dengan media isolasi Nutrient Agar (NA), Mueller Hinton Agar (MHA) dan Brain Heart Infussion (BHI) untuk pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* dengan waktu inkubasi adalah 24 sampai 72 jam.

Dapat disimpulkan bahwa setiap media isolasi yang digunakan dalam penelitian ini menampakkan perbedaan pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* jika diinkubasi dengan variasi waktu yang berbeda.

Kata kunci: uji pembentukan, pigmen, *Pseudomonas aeruginosa*, Media isolasi, waktu inkubasi.

ABSTRACT

Nanda Gita Darmayani. NIM 1181077. *Pseudomonas aeruginosa* pigment formation test on various isolation media against variations in incubation time.

Pseudomonas aeruginosa is a bacterium that has a characteristic growth medium that can distinguish it from other bacteria, namely pigments. Factors that influence pigment formation are the source of nutrition for each isolation medium and the incubation time. The purpose of this study was to determine the formation of *Pseudomonas aeruginosa* pigments when incubated in various isolation media with various time variations.

This research uses descriptive design. This research was conducted at the National STIKES Bacteriology Laboratory and the research was conducted in January-May. The samples of this research were *Pseudomonas aeruginosa* bacteria culture, Tryptic Soy Agar (TSA), Mueller Hinton Agar (MHA), Nutrient Agar (NA), and Brain Heart Infusion (BHI) isolation media in incubation with variations of incubation time of 8, 24, 48, 72 and 75 hours. The sampling technique used is Quota Sampling.

The results showed that the Tryptic Soy Agar (TSA) media was the best medium to use compared to the NA, MHA and BHI isolation media for the formation of *Pseudomonas aeruginosa* pigments with an incubation time of 24 to 72 hours.

It can be concluded that each isolation medium used in this study showed differences in the formation of *Pseudomonas aeruginosa* pigments when incubated with different time variations.

Key words : formation test, pigment, *Pseudomonas aeruginosa*, isolation media.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Dalam kehidupan sehari-hari terdapat mikroorganisme yang tersebar luas di alam baik di udara, air dan di dalam tanah yaitu bakteri. Bakteri merupakan golongan mikroorganisme prokariotik yang hidup berkoloni dan tidak mempunyai selubung inti namun bakteri mampu hidup dimana saja (Holderman dkk, 2017). Setiap bakteri memiliki ciri yang berbeda dari bentuk, sifat, morfologi, habitat, maupun ciri khas, salah satu bakteri yang menggunakan ciri khas pada media pertumbuhannya sehingga dapat diidentifikasi dengan mudah dan dapat dibedakan dengan bakteri lainnya adalah *Pseudomonas aeruginosa* (Hayati dkk, 2016).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri batang Gram negatif, aerob, dan bergerak menggunakan flagel. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang mampu beradaptasi dengan kondisi oksigen dan nutrisi rendah (Dharmayanti dan Dewa made, 2019). Bakteri genus ini memproduksi beberapa enzim seperti protease, amilase, dan lipase. Selain itu bakteri *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menguraikan protein, karbohidrat dan senyawa organik lain menjadi CO₂, gas amoniak, dan senyawa-senyawa lain yang lebih sederhana, bakteri ini dapat diidentifikasi berdasarkan pada morfologi koloni, oksidase positif ditunjukkan dengan adanya pigmen khas yaitu Pyosianin dan Pioverdin

(Rahmadian dkk, 2018). Pigmen merupakan zat pewarna yang dihasilkan oleh bakteri atau mikroorganisme. Pepton merupakan bahan penting tidak hanya untuk pertumbuhan bakteri tetapi juga untuk pembentukan pyocianin sebagai sumber asam amino atau zat pendorong pigmentasi (Fouly *et al.*, 2015). *Pseudomonas aeruginosa* memiliki beberapa pigmen antara lain adalah Piosianin (pigmen biru-hijau yang dapat membunuh bakteri lain), Pioverdin (menjadikan bakteri ini dapat berfluoresensi kehijauan), Piorubin (pigmen berwarna merah), dan Piomelanin (pigmen berwarna coklat). Tidak semua koloni *Pseudomonas* berpigmen, ada koloni yang mungkin hampir tidak berwarna, koloni pigmen berwarna krem (Arvina dkk,2017).

Pigmen pada *Pseudomonas aeruginosa* memiliki fungsi untuk memperlambat pertumbuhan dari beberapa bakteri lainnya sehingga mempermudah pertumbuhan koloni. Lama waktu inkubasi untuk menginkubasi bakteri akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri tersebut secara mikroskopis maupun makroskopis. Pigmen pyocianin pada media pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mulai diproduksi diperkirakan pada interval waktu 24 jam. Peningkatan bertahap pyocianin diamati dari 24-72. Pigmen pyosianin menunjukkan peningkatan konsentrasi stabil selama periode kultur 72 jam kemudian peningkatan lebih lanjut waktu inkubasi menghasilkan penurunan produksi Pyocianin (Gahlout *et al.*, 2017).

Berdasarkan Latar belakang diatas maka penulis tertarik mengambil penelitian Uji Pembentukan Pigmen Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Pada Berbagai Media Isolasi dan Dengan Variasi Waktu Inkubasi.

B. Pembatasan Masalah

Pembatasan masalah pada penelitian ini adalah memberikan data mengenai pembentukan pigmen bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan inkubasi pada berbagai media isolasi dengan berbagai variasi waktu.

C. Rumusan Masalah

Apakah pigmen *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan penampakan yang berbeda jika di inkubasi pada berbagai media isolasi dengan berbagai variasi waktu?

D. Tujuan Penelitian

1. Umum

Untuk mengetahui pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* jika di inkubasi pada berbagai media isolasi dengan berbagai variasi waktu.

2. Khusus

Untuk mengetahui bahwa lama waktu inkubasi dan berbagai media isolasi dapat mempengaruhi pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa*.

E. Manfaat Penelitian

1. Teoritis

Menambah pengetahuan pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* jika di inkubasi pada berbagai media isolasi dengan berbagai variasi waktu inkubasi.

2. Praktis

a. Peneliti

Menambah pengetahuan dan ketrampilan dalam penelitian dan penulisan Karya Tulis Ilmiah dalam bidang Bakteriologi Klinik khususnya dalam uji pembentukan pigmen bakteri *Pseudomonas aeruginosa* jika di inkubasi pada berbagai media isolasi dengan berbagai variasi waktu inkubasi.

b. Akademik

Menambah perbendaharaan Karya Tulis Ilmiah dalam bidang Bakteriologi Klinik khususnya dalam uji pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* jika di inkubasi berbagai media isolasi dengan berbagai variasi waktu inkubasi.

c. Tenaga Kesehatan

Memberikan informasi kepada tenaga kesehatan tentang uji pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* jika di inkubasi berbagai media isolasi dengan berbagai variasi waktu inkubasi.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan pada penulisan Karya Tulis Ilmiah ini adalah penelitian deskriptif karena menggambarkan mekanisme proses atau hubungan berbagai media isolasi dan variasi waktu inkubasi terhadap pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Klinik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian Karya Tulis Ilmiah ini dilakukan bulan Januari sampai Mei 2021.

C. Subyek dan Objek Penelitian

1. Subyek penelitian

Subyek penelitian adalah kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Laboratorium Bakteriologi Klinik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta

2. Obyek penelitian

Obyek penelitian adalah pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* pada media isolasi.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* di Laboratorium Bakteriologi Klinik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta di inkubasi pada inkubator dan di inokulasikan pada media isolasi

2. Sampel adalah kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang didapatkan dari laboratorium bakteriologi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta diinkubasi pada inkubator dengan variasi waktu 8 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 75 jam dan di inokulasikan pada media isolasi..

menggunakan waktu inkubasi pada 75 jam apakah intensitas warna pigmen masih terbentuk.

3. Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara yang digunakan untuk pertumbuhan atau membiakkan mikroba. Media yang digunakan Uji Pembentukan pigmen adalah Media Nutrient Agar (NA), Mueller Hinton Agar (MHA), Tryptic Soy Agar (TSA) dan Brain Heart Infusion (BHI) karena pada media tersebut mengandung sumber asam amino dan mendorong terbentuknya pigmentasi pada media.

Variasi Terikat : Pigmen *Pseudomonas aeruginosa*

Variabel Bebas : Variasi waktu inkubasi dan media isolasi

F. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan adalah Quota Sampling yaitu pengambilan sampel sesuai yang dibutuhkan.

G. Sumber Data Penelitian

Sumber data yang digunakan adalah sumber data primer yang diperoleh dari observasi mengenai bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan pembentukan Pigmen sebagai ciri khas bakteri yang dipengaruhi oleh berbagai media isolasi dan variasi waktu inkubasi.

H. Instrumen Penelitian (alat dan bahan)

1. Alat

Alat pemeriksaan yang digunakan pada penelitian adalah sebagai berikut :

Alat pelindung diri (jas laboratorium, masker, handscoon), ohse bulat dan lurus, rak tabung, tabung reaksi kecil, Object glass, pembakar siptus, rak pengecatan, korek api, Inkubator, kapas.

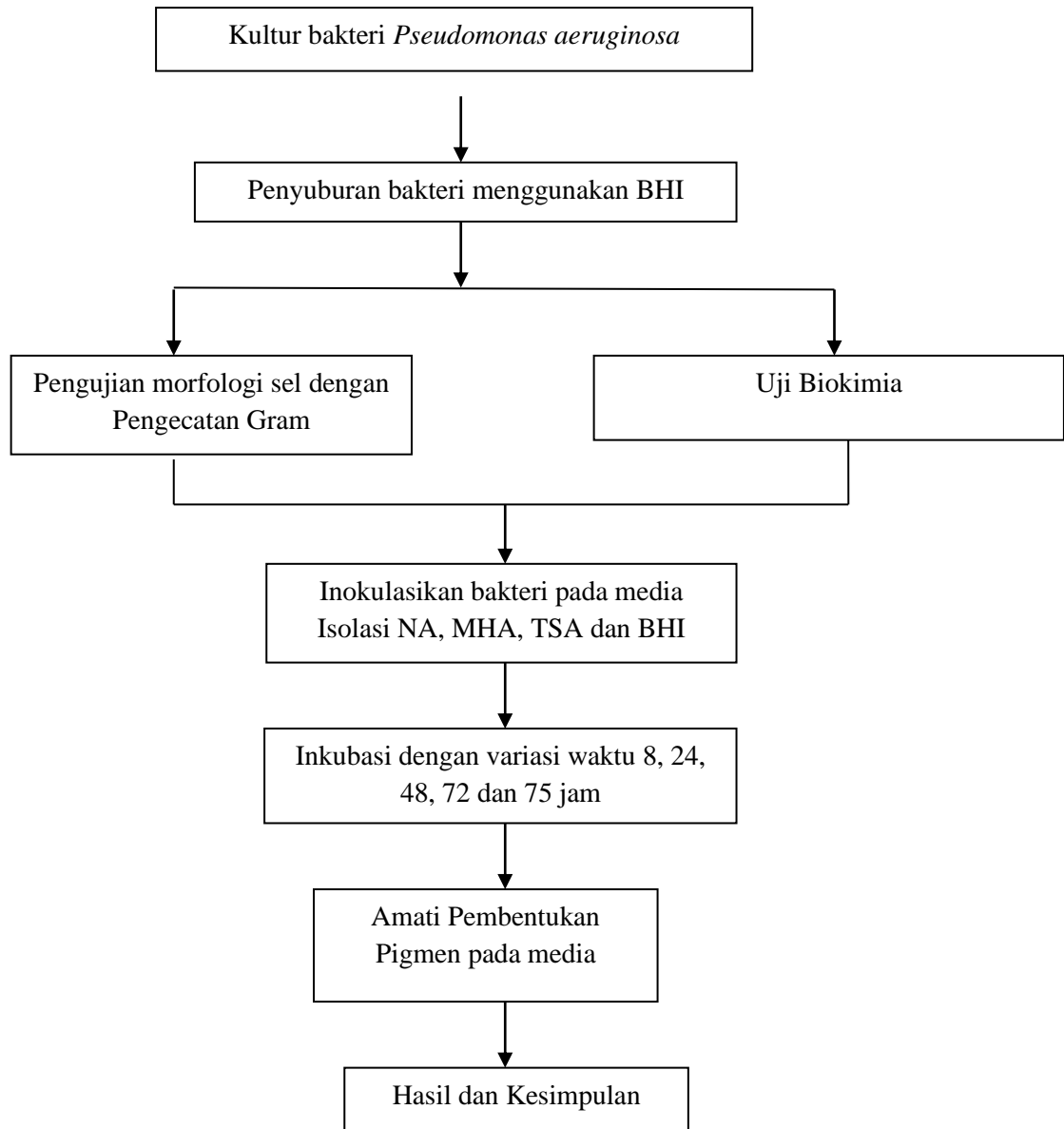
2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah sebagai berikut:

Kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, Cat Gram (A, B, C dan D), Media Nutrient Agar (NA), Media Mueller Hinton Agar (MHA), Tryptic Soy Agar (TSA), Brain Heart Infusion (BHI), emersi oil, alkohol 70%, Mac Conkey, Media Triple Sugar Iron Agar (TSIA), Sulfit Indol Motil (SIM), Urea, Citrat, VP, Methyl Red (MR), Media Penil Alanin Diaminase (PAD), Reagen barried, kovac, KOH 40%, FeCl 10%, aquadest steril.

I. Alur Penelitian

1. Bagan Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian

2. Cara kerja

- a. Siapkan alat dan bahan yang digunakan.

- b. Sampel kultur bakteri dilakukan peremajaan menggunakan media BHI, inokulasikan sampel menggunakan ohse bulat kedalam media BHI, inkubasi 37⁰ C 24 jam.
- c. Setelah di inkubasi selama 24 jam, dilakukan pengecatan gram.
 - 1) Ambil 1-2 ohse suspensi biakan bakteri letakkan diatas obyek glass bagian tengah.
 - 2) Ratakan suspensi memutar searah jarum jam dengan ukuran 2x3 cm. Kering anginkan preparat hingga kering.
 - 3) Genangi preparat dengan Gram A (kristal violet), 2-5 menit, kemudian buang sisa cat.
 - 4) Tanpa dibilas genangi dengan Gram B (Iodin) selama 30 detik, cuci preparat dengan air mengalir.
 - 5) Decolorisasi preparat dengan Gram C (Alkohol) sampai luntur, cuci preparat dengan air mengalir.
 - 6) Genangi dengan Gram D (Safranin) selama 2-5 menit, cuci preparat dengan air mengalir, kering anginkan. Amati preparat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100X ditambah dengan emersi oil.
- d. Inokulasikan koloni pada media Mac Conkey (MC), Sampel dari media BHI inokulasikan pada media Mac Conkey secara aseptis kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C.

Menurut Girsang dkk (2019) koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada media MC memiliki ciri koloni yang berbentuk bulat dan halus serta memiliki permukaan koloni rata.

e. Uji Biokimia

Inokulasikan koloni bakteri yang terpisah dari media MC ke media Uji Biokimia yaitu : TSIA, SIM, Urea, Citrat, MR, VP, PAD, Gula-gula (Glukosa, Maltosa, Manitol, Laktosa, dan Sukrosa) di Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C.

1) Media TSIA

Acid (Asam) :Media berubah warna menjadi kuning.

Alkali (Basa) : Media berubah menjadi merah

H₂S : Media berubah menjadi hitam

Pembentukan Gas : Gelembung Udara(Ismail dkk,2017)

2) SIM (Sulfit Indol Motil)

a) Indol (+)

Dengan penambahan reagen kovac's, uji positif ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna merah (Ismail dkk, 2017).

b) Motilitas (+)

Pertumbuhan bakteri yang menyebar pada media menunjukkan hasil positif (Ismail dkk, 2017).

c) H_2S membentuk Endapan warna hitam (Ismail dkk, 2017)

3) Urea

Hasil positif ditandai dengan perubahan warna kuning menjadi merah muda (Ulfa dkk, 2016)

4) Citrat

Hasil positif ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru (Ulfa dkk, 2016).

5) Methyl red (MR)

Uji positif ditandai dengan perubahan warna merah setelah penambahan Metil Red (Ismail dkk, 2017).

6) Voges Proskauer (VP)

Uji positif ditandai dengan perubahan warna media menjadi merah, setelah penambahan 3 tetes KOH 3% (Ismail dkk, 2017).

7) Phenyl Alanin Deaminase (PAD)

Dengan penambahan $FeCl_3$ menyebabkan warna menjadi hijau.

8) Uji Fermentasi Glukosa

Uji Gula dikatakan positif apabila media berubah warna kuning.

Tabel 3.1 Uji Biokimia *Pseudomonas aeruginosa*

Media	Hasil Uji Biokimia
TSIA	
Fermentasi	AL/AL
H ₂ S	-
Media SIM	
Indol	-
Motil	+
H ₂ S	-
Urea	+
Citrat	+
MR	-
VP	-
PAD	-
Glukosa	+
Laktosa	-
Sukrosa	-

- f. Kemudian koloni dari media MC inokulasikan ke media isolasi Nutrient Agar (NA), Mueller Hinton Agar (MHA), Tryptic Soy Agar (TSA) dan Brain Heart Infusion (BHI). Inkubasi dengan

waktu 8, 24, 48, 72, 75 jam. Amati pembentukan pigmen setiap waktu inkubasi yang telah ditentukan.

J. Teknik Analisis Data Penelitian

Teknik Analisis data pada Karya Tulis Ilmiah ini ditentukan berdasarkan hasil Uji pembentukan pigmen bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan variasi lama waktu inkubasi dan pada media isolasi.

Tabel 3.2 Matriks pengamatan Observasi Pembentukan Pigmen *Pseudomonas aeruginosa*

Waktu	Keterangan
Hari I	Penyuburan pada media BHI
Hari II	Uji karakteristik sel dengan pengecatan gram
Hari III	Uji Biokimia
Hari IV	Inokulasikan pada media NA, MHA, TSA dan BHI, pengamatan pembentukan pigmen inkubasi 8 jam
Hari V	Pengamatan pembentukam pigmen inkubasi 24 jam
Hari VI	Pengamatan pembentukam pigmen inkubasi jam 48 jam
Hari VII	Pengamatan pembentukam pigmen inkubasi 72 dan 75 jam

**Tabel 3.3 Tabel Observasi Pembentukan pigmen
*Pseudomonas aeruginosa***

Nama Media	Waktu Inkubasi				
	8 jam	24 jam	48 jam	72 jam	75 jam
Nutrient Agar					
Mueller Hinton Agar (MHA)					
Media Triptic Soy Agar (TSA)					
Media Brain Heart Infusion (BHI)					

Pengamatan pigmen dilihat berdasarkan penampakan pembentukan pigmen yang terbentuk pada media maupun koloni.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Pigmen *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan penampakan yang berbeda jika di inkubasi pada berbagai media isolasi dengan berbagai variasi waktu inkubasi.

B. Saran

1. Bagi peneliti

- a. Peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian uji pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai media isolasi terhadap variasi waktu inkubasi dengan metode pengamatan menggunakan spektrofotometri.
- b. Peneliti selanjutnya dapat melakukan pengamatan pigmen dengan menguji faktor lain yang dapat mempengaruhi pigmen selain waktu inkubasi dan media isolasi.
- c. Peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian uji pembentukan pigmen *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan media isolasi yang khusus untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Bagi Akademik

- a. Menambah referensi buku di perpustakaan guna mempermudah mahasiswa dalam melakukan Karya Tulis Ilmiah.

DAFTAR PUSTAKA

- Arvina, F., Mahdi A., Farida A., Rastina., M. Nur, S.(2017). Isolasi Bakteri *Pseudomonas sp* Pada Ikan Asin Talang-talang (*Scomberoides tala*) di Desa Puloet Kecamatan Leupung Kabupaten Aceh Besar. *JIMVET*, Vol. 01(3) hal. 547-551.
- Adawiyah, L., Maruni, W D., Erlin, Y T. 2019. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Morfologi Bakteri *Neisseria gonorrhoeae*. *Jurnal Kesehatan Poltekkes Kemenkes RI Pangkal Pinang*. Vol 7, No 2
- Brooks, G. F., K.C., Butel, J.S.Y., Morse, S. A., Mietzner, T.2013. Jawetz, Melnick, Adelberg's *Medical Microbiology*, 26th Edition. New York:McGraw-Hill
- Dharmayanti, I., Dewa, M. (2019). Karakteristik Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan Pola Kepekaannya Terhadap Antibiotik di *Intensive care unit* (ICU) RSUP Sanglah pada bulan november 2014-januari 2015. *E-Jurnal Medika*, vol 8 No. 4.
- Elbargisy, R M., Optimization of Nutritional and Environmental Conditions for Pyocyanin Production by Urin Isolatesof *Pseudomonas aeruginosa*. *Saudi Journal of Biological Sciences*. Vol. 28, pages 993-1000
- Fatmariza, M., Nurul, I., Rohmi.(2017). Tingkat Kepadatan Media Nutrisi Agar terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.*Jurnal Analis Medika Biosains*. Vol. 4 No. 2.
- Firnanda, R., Sugito, F., Ambarwati, D V S. 2013. Isolasi *Aeromonas hydrophila* pada sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi tepung daun jalloh (*Salix tetrasperma* Roxb). *Jurnal Medika Veterinaria*. Vol. 7 (1)
- Fouly, MZ., Sharaf AM., Heba A E., Omara, A M A. 2015. Biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. Voll 8 no. 1 pp 36-48.

- Gahlout, M., Hiren, P., Poonam, C., Nilam, P., Dhritu, S. (2017). Isolation and screening of pyocyanin producing *Pseudomonas spp.* From soil. *International Journal of Advanced Research in Biological Science*, Vol. 4.
- Girsang, M., Armansyah, T., Mahdi, A., Erina, Daniati, Nurul, A, 2019. Effect of Temu Kunci's Root (*Boesenbergia pandurata*) Extract to *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Medika Veterinaria*. Vol 13 No. 2 hal. 166-171
- Hayati, Z., Siti, N., Agung, S. (2016). Isolasi Bakteriofage *Pseudomonas sp.* DA1 dari Biofilm Pada Sistem Pengisian Air Minum Isi Ulang. *Jurnal Biologi*. Vol. 5 No. 3 hal. 29-35.
- Holderman, M V., Edwin, Q., Sendy, B R. 2017. Identifikasi Bakteri Pada Pegangan Eskalator di Salah satu Pusat Perbelanjaan Di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol. 17, No. 1 pp 13-18
- Ismail, Y S., Cut, Y., Putriani. 2017. Isolasi, karakteristik dan uji aktiitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao L.*) *BIOLEUSER*. Vol 1(2). Hal 45-53
- Kasper, D L., Hauser, SL., Jameson, JL., Fauci, A., Longo, D L., Loscalzo, J. 2015. *Harrison's Principles Of Internal Medicine 19e*. McGraw-hill, USA, pp. 1044
- Mardiana, Ruth., Nestri, H.(2016). Uji Aktivitas Bakteri Ekstrak Daun Sambiloto (*Anrographis paniculata*) Terhadap *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofarmasi*. Vol. 14 N0. 1 pp 19-24
- MicrobeHolic. 2020. Tryptic Soy Agar(TSA)-Definisi, Komposisi, Cara pembuatan, dan Interpretasi Uji. <https://www.microbeholic.com/2020/12/triptic-soy-agar-tsa-definisi-komposisi-cara-pembuatan-dan-interpretasi-uji.html?m=1> / Diakses pada tanggal 20 Januari 2020 jam 19:34
- Mustahal, Anik., W.(2012). Identifikasi Bakteri Yang Menginfeksi Ikan Garba Rufa (*cyprinion macrostamus*) di Balai Besar Karantina Ikan Soekarno-Hatta. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. Vo. 11 No. 2 hal. 65-70

- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2020. *Taxonomy of Pseudomonas aeruginosa* (online). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/?term=Pseudomonas+aeruginosa>. Diakses pada tanggal 16 Januari 2021 jam 14:56
- Nepali, Bikram., Sabin, B., jiban., S., Identification of *Pseudomonas fluorescens* using dipperent biochemical tests. *International Journal of Applied Biology*. Vol. 2(2) pp 29
- Putri, R., Widodo, YL., Ciptaningtyas, R. (2016). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pepaya(*Carica papaya* l.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Secara in vitro. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. Vol 5No. 4 1568-1575.
- Rahmadian, CA., Ismail., Mahdi A., Erina., Rastina., Yudha F. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Pada Ikan Asin di Tempat Pelelangan Ikan Labuhan Haji Aceh Selatan. *JIMVET E-ISSN*, vol 2 No. 4 hal. 493-502.
- Rapi, D H., Erina., Darniati. 2017. Isolation of *Pseudomonas* sp. That failed to hatch quail's eggs (*conturnix-coturnix japonica*) in Garot, Darul Imarah Subdistric, Aceh Besar. *Jurnal medika Veterinaria*. Vol 11(2).
- Sharah, A., Rahman, K., Desmilati. 2015. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Yang di Isolsi Dari Ikan Peda Kembang (*Rastrelligersp*). *JOM*.
- Soekiman, S. 2016. *Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Hospital Nosocomial Infections*. Surabaya: CV. Sagung Seto.
- Todar. 2020. *Pseudomonas aeruginosa*. *Textbookofbacteriology.net*. Diunduh pada tanggal 16 Januari 2021.
- Ulfa, A., Endang, S., Mimien, H I., 2016. Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan. *Proceeding Biology Education Conference*. Vol 13 No. 1. Hal 793-799
- Utomo, S B., Mita, F., Warih, P L., Sri, M. 2018. Uji Aktifitas Senyawa C-4 Metoksifenikaliks[4] Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide terhadap Bakteri

Staphylococcus aureus and escherichia coli Bacteria. Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia. Vol. 3, No 3 Hal. 201-209.

Wicaksono, S., Kusdiyantini, E., Raharjo, B. 2017. Pertumbuhan dan Produksi Pigmen Merah *Serratia marcescens* pada berbagai Sumber Karbon. *Jurnal Biologi*, Volume 6 No 3, Hal. 66-74

Wijesinghe, G., Ayomi, D., Buddhika, G., Nilwala, K., Lakshman, S., Manjula, W. 2019. Influence of Laboratory Culture Media on in vitro Growth, Adhesion, and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Medical Principles and Practice*. 28:28-35.