

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Surat Keterangan Layak Etik


**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES YOGYAKARTA**

Jl. Tatabumi No. 3, Banyuraden, Gamping, Sleman, D.I. Yogyakarta  
Telp./Fax. (0274) 617601  
Email : kepk@poltekkesjogja.ac.id



**KETERANGAN LAYAK ETIK**  
*DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION*  
"ETHICAL EXEMPTION"

No.DP.04.03/e-KEPK.1/078/2023

Protokol penelitian versi 1 yang diusulkan oleh :  
*The research protocol proposed by*

Peneliti utama : PATRIA SIWI MARTATI  
*Principal In Investigator*

Nama Institusi : Poltekkes Kemenkes Yogyakarta  
*Name of the Institution*

Dengan judul:  
*Title*

**"Pengaruh Liofilisasi Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923 dengan Serum Kuda sebagai Lioprotektan yang Disimpan Selama Dua Bulan pada Suhu 4oC terhadap Viabilitas, Morfologi dan Biokimia"**

*"Pengaruh Liofilisasi Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923 dengan Serum Kuda sebagai Lioprotektan yang Disimpan Selama Dua Bulan pada Suhu 4oC terhadap Viabilitas, Morfologi dan Biokimia"*

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang menunjuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

*Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.*

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 10 Februari 2023 sampai dengan tanggal 10 Februari 2024.

*This declaration of ethics applies during the period February 10, 2023 until February 10, 2024.*



February 10, 2023  
Professor and Chairperson,



Dr. drg. Wiworo Haryani, M.Kes.

## Lampiran 2. Surat Keterangan Pelaksanaan Penelitian



**SURAT KETERANGAN**  
**Nomor: Lb.02.01/4.1/488/2023**

Dengan ini menyatakan bahwa :

Nama : Patria Siwi Martati  
 Nim : P07134219003  
 Institusi : Prodi Diploma IV Teknologi Laboratorium Medis  
 Poltekkes Kemenkes Yogyakarta  
 Judul Penelitian : Pengaruh Liofilisasi Bakteri *Staphylococcus aureus*  
 ATCC 25923 dengan Serum Kuda Sebagai Lioprotektan  
 yang Disimpan Selama Dua Bulan Pada Suhu 4°C  
 terhadap Viabilitas, Morfologi dan Biokimia

Bahwasanya mahasiswa tersebut di atas telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium  
 Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.  
 Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 15 Mei 2023

Ketua Jurusan

Muji Rahayu, S.Si., Apt., M.Sc<sup>1</sup>

NIP. 19660615 198511 2 001

Jurusan Gizi  
 Jl. Tatabumi No. 3 Banyuraden, Gamping, Sleman, Yogyakarta  
 Telp./Fax : 0274-617679

Jurusan Keperawatan  
 Jl. Tatabumi No. 3 Banyuraden, Gamping, Sleman, Yogyakarta  
 Telp./Fax : 0274-617885


Jurusan Kesehatan Lingkungan  
 Jl. Tatabumi No. 3 Banyuraden, Gamping, Sleman, Yogyakarta  
 Telp./Fax : 0274-660962

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis  
 Jl. Ngadinegaran MU III/62, Yogyakarta 55143  
 Telp./Fax : 0274-374200

Jurusan Kebidanan  
 Jl. Mangkuyudan MU III/304 Manrijeron Yogyakarta  
 Telp./Fax : 0274-374331

Jurusan Kesehatan Gigi  
 Jl. Kyal Mojo No.56 Yogyakarta 55243  
 Telp./Fax : 0274-614306

## Lampiran 3. Sertifikat Hasil Uji Mikrobiologi



PEMERINTAH DAERAH DAERAH ISTIMEWA YOGYAKARTA  
**DINAS KESEHATAN**  
**BALAI LABKES DAN KALIBRASI**  
 보건사업관리평가연구소

Alamat : Ngadinegaran MJ III/62 Yogyakarta telepon. (0274) 378187, faksimile (0274) 381582  
 Website: <http://labkes.jogjaprovo.go.id> Email : labkes\_yk@yahoo.com Kode Pos 55143

---

**SERTIFIKAT HASIL UJI**

Pengujian Mikrobiologi


1. Contoh Uji	: Koleksi Strain Balai Labkes dan Kalibrasi Dinkes DIY
2. Asal Contoh uji	: Oxoid
3. Penguji	: Evina Widi Astuti, S.ST.
4. Jabatan	: PLK Ahli Muda Balai Labkes dan Kalibrasi Dinkes DIY
5. Tanggal Pengujian	: 30 Maret – 5 April 2023
6. Peminta	: Patria Siw Martati
7. Alamat	: Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta

Uraian : Biakan murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

NO	PARAMETER	SATUAN	HASIL UJI	METODE
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Tabung	Uji isolasi dan Identifikasi sesuai dengan karakteristik strain <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Biakan & Identifikasi

Catatan :

- Hasil uji ini hanya berlaku untuk contoh yang diuji

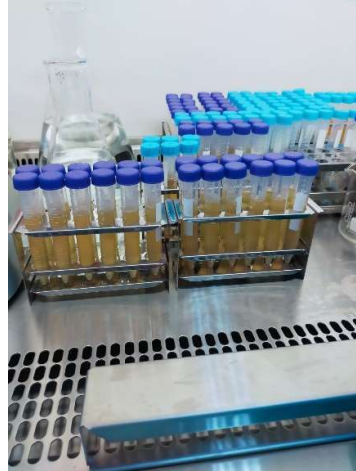


Yogyakarta, 6 April, 2023  
 Deputy Manager Mutu,  
 Dra. Darwani, M.Sc  
 NIR-196604121995032001

## Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian



Persiapan Alat untuk  
Disterilisasi



Bakteri yang Sudah  
ditambah BHI



Penambahan PBS pada  
Bakteri



Homogen PBS dan Bakteri  
dengan Vortex



Liofilisasi Bakteri *Staphylococcus aureus*



Pembuatan Media Uji Biokimia



Media DNase Miring



Media DNase, Media Manitol dan Media Glukosa





Liofilisat Bakteri  
*Staphylococcus aureus* yang  
Sudah Ditambah BHI



Media *Blood Agar Palet* (BAP)



Inokulasi Liofilisat Bakteri  
pada Media BAP



Koloni Liofilisat *Staphylococcus aureus* pada Media BAP



Pengamatan Koloni Bakteri di Media BAP



Penanaman Pada Media Uji Biokimia



Pewarnaan Bakteri dengan Pengecatan Gram

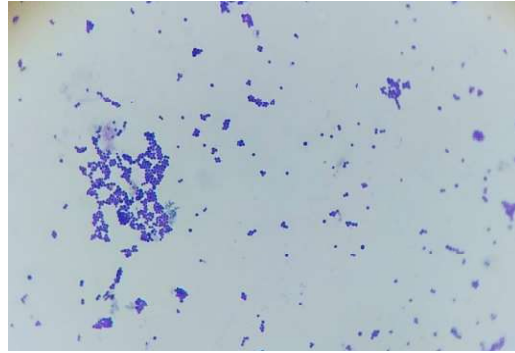


Pengamatan Uji Koagulasi

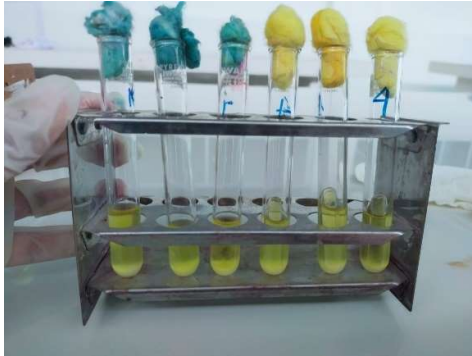




Pengamatan Koloni *Stapylococcus aureus* Setelah Pengecatan Gram



Penampakan Mikroskopis Bakteri Gram Positif *Stapylococcus aureus*



Hasil Positif Uji Manitol dan Uji Glukosa

Lampiran 5. Data Hasil ALT Liofilisat Bakteri *Stapylococcus aureus*

<i>Stapylococcus aureus</i> Sebelum Disimpan		
Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3
Pengenceran $10^{-4}$ Jumlah koloni = 410 ALT = TBUD	Pengenceran $10^{-4}$ Jumlah koloni = 430 ALT = TBUD	Pengenceran $10^{-4}$ Jumlah koloni = 440 ALT = TBUD
Pengenceran $10^{-5}$ Jumlah koloni = 56 ALT = $5,6 \times 10^6$	Pengenceran $10^{-5}$ Jumlah koloni = 69 ALT = $6,9 \times 10^6$	Pengenceran $10^{-5}$ Jumlah koloni = 71 ALT = $7,1 \times 10^6$
Pengenceran $10^{-6}$ Jumlah koloni = 11 ALT = TSUD	Pengenceran $10^{-6}$ Jumlah koloni = 9 ALT = TSUD	Pengenceran $10^{-6}$ Jumlah koloni = 8 ALT = TSUD

<i>Stapylococcus aureus</i> Setelah Disimpan Dua Bulan pada Suhu $4^{\circ}\text{C}$		
Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3
Pengenceran $10^{-3}$ Jumlah koloni = 311 ALT = TBUD	Pengenceran $10^{-3}$ Jumlah koloni = 319 ALT = TBUD	Pengenceran $10^{-3}$ Jumlah koloni = 321 ALT = TBUD
Pengenceran $10^{-4}$ Jumlah koloni = 77 ALT = $7,7 \times 10^5$	Pengenceran $10^{-4}$ Jumlah koloni = 85 ALT = $8,5 \times 10^5$	Pengenceran $10^{-4}$ Jumlah koloni = 98 ALT = $9,8 \times 10^5$
Pengenceran $10^{-5}$ Jumlah koloni = 15 ALT = TSUD	Pengenceran $10^{-5}$ Jumlah koloni = 19 ALT = TSUD	Pengenceran $10^{-5}$ Jumlah koloni = 15 ALT = TSUD

Yogyakarta, April 2023

Mengetahi,  
Pembimbing Utama


Bambang Supriyanta, S.Si, M.Sc.  
NIP.19620410 198403 1 003

## Lampiran 6. Penghitungan Viabilitas Bakteri

## 1. Sebelum Penyimpanan Dua Bulan

Sampel ke-	Pengenceran	Jumlah Koloni	Hasil ALT (CFU/ml)	Rerata (CFU/ml)
1	10 <sup>-4</sup>	410	TBUD	6,5 x 10 <sup>6</sup>
	10 <sup>-5</sup>	56	5,6 x 10 <sup>6</sup>	
	10 <sup>-6</sup>	11	TSUD	
2	10 <sup>-4</sup>	430	TBUD	
	10 <sup>-5</sup>	69	6,9 x 10 <sup>6</sup>	
	10 <sup>-6</sup>	9	TSUD	
3	10 <sup>-4</sup>	440	TBUD	
	10 <sup>-5</sup>	71	7,1 x 10 <sup>6</sup>	
	10 <sup>-6</sup>	8	TSUD	

Keterangan:

TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung &gt; 300

TSUD = Terlalu Sedikit Untuk Dihitung &lt; 30

$$1. \quad ALT = 56 \times \frac{1}{10^{-5}} = 56 \times 10^5 = 5,6 \times 10^6$$

$$2. \quad ALT = 69 \times \frac{1}{10^{-5}} = 69 \times 10^5 = 6,9 \times 10^6$$

$$3. \quad ALT = 71 \times \frac{1}{10^{-5}} = 71 \times 10^5 = 7,1 \times 10^6$$

$$\text{Rerata ALT Sebelum Penyimpanan} = \frac{5,6 + 6,9 + 7,1}{3} \times 10^6 = 6,5 \times 10^6$$

## 2. Setelah Penyimpanan 2 Bulan

Sampel ke-	Pengenceran	Jumlah Koloni	ALT (CFU/ml)	Hasil ALT (CFU/ml)	Rerata ALT (CFU/ml)
1	10 <sup>-3</sup>	311	TBUD	7,7 x 10 <sup>5</sup>	8,6 x 10 <sup>5</sup>
	10 <sup>-4</sup>	77	7,7 x 10 <sup>5</sup>		
	10 <sup>-5</sup>	15	TSUD		
2	10 <sup>-3</sup>	319	TBUD		
	10 <sup>-4</sup>	85	8,5 x 10 <sup>5</sup>		
	10 <sup>-5</sup>	19	TSUD		
3	10 <sup>-3</sup>	321	TBUD		
	10 <sup>-4</sup>	98	9,8 x 10 <sup>5</sup>		
	10 <sup>-5</sup>	15	TSUD		

Keterangan:

TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung &gt; 300

TSUD = Terlalu Sedikit Untuk Dihitung < 30

$$1. \text{ ALT} = 77 \times \frac{1}{10^{-5}} = 77 \times 10^4 = 7,7 \times 10^5$$

$$2. \text{ ALT} = 85 \times \frac{1}{10^{-5}} = 85 \times 10^4 = 8,5 \times 10^5$$

$$3. \text{ ALT} = 98 \times \frac{1}{10^{-5}} = 98 \times 10^4 = 9,8 \times 10^5$$

$$\text{Rerata ALT Sebelum Penyimpanan} = \frac{7,7+8,5+9,8}{3} \times 10^6 = 8,6 \times 10^5$$

3. Analisis ALT dalam Log 10  
Hasil perhitungan ALT kemudian dilog10.

Sampel	Jumlah Bakteri dalam <i>Colony Forming Unit</i> (CFU)/ml	
	Liofilisat Bakteri	Liofilisat Bakteri
	<i>Stapylococcus aureus</i> Sebelum Penyimpanan	<i>Stapylococcus aureus</i> Setelah Penyimpanan
1	$5,6 \times 10^6$	$7,7 \times 10^5$
2	$6,9 \times 10^6$	$8,5 \times 10^5$
3	$7,1 \times 10^6$	$9,8 \times 10^5$
Rerata	$6,5 \times 10^6$	$8,6 \times 10^5$

$$\begin{aligned} \text{Rerata Log 10 ALT Sebelum Penyimpanan} &= \text{Log 10 } (6,5 \times 10^6) \\ &= 6,8129 \text{ log 10 CFU/ml} \\ &= 6,81 \text{ log 10 CFU/ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rerata Log 10 ALT Setelah Penyimpanan} &= \text{Log 10 } (8,6 \times 10^5) \\ &= 5,9344 \text{ log 10 CFU/ml} \\ &= 5,93 \text{ log 10 CFU/ml} \end{aligned}$$

4. Persentase Viabilitas Bakteri

$$\begin{aligned} \text{Viabilitas} &= \frac{[\text{log 10 ALT liofilisat bakteri setelah disimpan (CFU/ml)}]}{[\text{log 10 ALT liofilisat bakteri sebelum disimpan (CFU/ml)}]} \times 100\% \\ &= \frac{5,93}{6,81} \times 100\% \\ &= 87\% \end{aligned}$$