

**PENGUKURAN KEPADATAN BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA CEPAT
DENGAN MENGGUNAKAN SPECTROFOTOMETER**

**MEASUREMENT STANDARD OF POPULATION DENSITY OF *Vibrio harveyi*
USING METHODS OF PLATE COUNT (TPC) AND SPECTROPHOTOMETER**

Diterima tanggal 06 Februari 2019, Disetujui tanggal 30 Maret 2019

Seniati, Marbiah dan Andi Irham

Jurusan Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep

Email : seniati.pasca@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri *Vibrio harveyi* adalah salah satu jenis bakteri yang sering digunakan sebagai bahan praktikum maupun bahan penelitian di Laboratorium Kesehatan Ikan, Jurusan Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep. Penggunaan bakteri *V. harveyi* biasanya dalam kepadatan tertentu sesuai dengan kebutuhan. Untuk menentukan kepadatan bakteri *V. harveyi* dapat menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Metode ini membutuhkan waktu minimal 24 jam untuk dapat menentukan kepadatan bakteri, sehingga metode ini dianggap kurang efektif digunakan untuk kebutuhan waktu yang lebih cepat. Untuk itu perlu melakukan pengembangan metode yang lebih cepat dan akurat dengan menggunakan spektrofotometer untuk melihat tingkat kekeruhan (*Optical Density*) yang terbaca melalui nilai absorbansi yang dihasilkan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan selama kurang lebih 3 bulan dengan menggunakan *V. harveyi* sebagai sampel uji yang bersumber dari BBRBAP Maros. Populasi bakteri *V. harveyi* dihitung dengan metode TPC dan dalam waktu yang bersamaan juga dilakukan pengukuran OD dengan menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 620 nm. Untuk mendapatkan nilai akurasi tinggi maka kegiatan yang sama dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Hasil analisis regresi dari nilai TPC dengan nilai OD menunjukkan pola linier, hal ini menunjukkan ada hubungan korelasi antara nilai OD dengan kepadatan bakteri. Semakin tinggi kepadatan bakteri maka nilai OD juga semakin tinggi. Hubungan kedua parameter tersebut mempunyai persamaan $y = 6,2818x + 1,7026$ dengan nilai korelasi $(r) = 0,9506$. Artinya bahwa, setiap peningkatan nilai absorbansi (OD) akan diikuti oleh meningkatnya jumlah bakteri. Perhitungan populasi bakteri *V. harveyi* dapat dilakukan dengan meregresikan nilai OD dan jumlah bakteri kedalam persamaan garis kurva standar $y = ax + b$, dimana y = jumlah kepadatan bakteri, dan x = besarnya nilai OD..

Kata kunci : Standard, TPC, Spektrofotometer, *Vibrio harveyi*, OD.

ABSTRACT

Use of bacteria *V. harveyi* in laboratory experiments usually in certain density based on the needs. In order to determine density of bacteria, it can be used TPC method. This method takes at least 24 h to determine the density of bacteria, so that this method is considered ineffective in rush and urgent activities. Therefore, it is necessary to develop faster and accurate methods using spectrophotometer to determine absorbent density (absorbance) of each serial of bacterial dilution. The research has carried out in Fish Health Laboratory of Pangkep State Polytechnic of

Agriculture for 3 months using *V. harveyi* as tested bacteria collected from BBRBAP Maros. Population of bacteria was counted by method of Total Plate Count (TPC) and in the same time absorbent density of bacteria was measured using spectrophotometer at 620 nm. In order to gain accurate data, the measurement was done twice. Results of TPC measurement were compared with results of absorbent density measurement by spectrophotometer.

Kata kunci : Standard, Spectrofotometer, *Vibrio harveyi*, Optical density.

PENDAHULUAN

Bakteri *Vibrio* merupakan salah satu bakteri yang sangat familiar khususnya dalam lingkup budidaya perikanan, dimana bakteri ini merupakan salah satu penyebab penyakit yang dapat menimbulkan kematian massal pada budidaya udang (Feliatra, dkk., 2011). Penyerangannya sangat cepat sehingga terkadang petani belum sempat mengambil tindakan pengendalian, organisme budidaya telah mengalami kematian dalam prosentasi yang cukup tinggi.

Kasus penyakit vibriosis banyak terjadi di berbagai daerah, dan penyebarannya sudah sangat luas, sehingga banyak peneliti yang berupaya mengkaji lebih jauh sifat dan karakteristik dari *Vibrio* untuk dapat menemukan teknik atau cara pengendalian dengan cepat dan tepat. Nasmia (2007) mengemukakan bahwa *Vibrio* sp menyebabkan mortalitas sebesar 90 % pada larva udang windu, menyebabkan kematian sampai 100% pada larva udang windu (*Penaeus monodon*) di hatchery (Manefield *et.al*, 2000). Sedangkan Mariyono, dkk. (2002) dalam melakukan uji terhadap tingkat mortalitas larva udang windu (zoea) menyimpulkan bahwa *V. harveyi* dapat menyebabkan kematian sebesar 100% dengan konsentrasi bakteri 10^7 , 10^6 , 10^5 CFU/mL dan terjadi kematian sebesar 96% pada konsentrasi bakteri 10^4 , 10^3 CFU/mL yang dilakukan selama 24 jam perendaman. Bakteri *V. vulnificus* dapat menjadi patogen pada ikan sidat dan manusia apabila bersifat indol negatif dan serologik homogen sedangkan pathogen pada manusia apabila bersifat indol positif (Desrina, 2006).

Kajian penyakit vibriosis semakin sering dilakukan sehingga keberadaan bakteri ini sangat mudah ditemukan di laboratorium khususnya laboratorium mikrobiologi dan laboratorium kesehatan ikan. Intensitas penggunaan bakteri ini sangat tinggi, oleh karenanya stok biakan bakterinya senantiasa harus ada di laboratorium. Selain itu, laboratorium juga sebaiknya dapat menyediakan *vibrio* dengan kepadatan sesuai kebutuhan pendidikan maupun penelitian dalam waktu yang singkat dan tepat. Metode yang sering digunakan selama ini adalah metode Mack Farland yaitu suatu larutan dengan deretan tingkat kekeruhan yang berbeda yang digunakan sebagai standar kepadatan populasi 10^1 hingga kepadatan 10^{10} . Metode ini sangat sederhana dan setidaknya dapat membantu dalam kondisi yang mendesak, namun memiliki kekurangan yaitu warna larutan terkadang berbeda dengan warna bakteri yang ditumbuhkan pada media cair sehingga sering membingungkan laboran dalam menentukan kepadatan populasi. Metode lain yang biasa digunakan adalah *Total Plate Count* (TPC). Metode ini menghasilkan data yang cukup akurat, namun waktu penyajiannya cukup lama yaitu sekitar 24 jam, sehingga terkadang dalam suatu penelitian yang membutuhkan data kepadatan bakteri dalam waktu singkat, maka hal ini akan menjadi suatu kendala. Oleh karena itu, dianggap perlu melakukan penelitian di laboratorium terkait pengembangan metode perhitungan populasi bakteri khususnya bakteri *V. harveyi* yang waktunya lebih cepat dan hasilnya akurat yaitu dengan menggunakan spectrofotometer.

RUMUSAN MASALAH

Perhitungan kepadatan populasi bakteri *V. harveyi* selama ini menggunakan metode TPC, membutuhkan waktu sekitar 24-48 jam, sehingga apabila dibutuhkan data kepadatan populasinya dalam waktu cepat untuk kepentingan praktikum ataupun penelitian, maka hal ini akan menjadi suatu masalah. Oleh karena itu, dianggap perlu melakukan pengembangan metode pengukuran populasi bakteri *V. harveyi* yang lebih cepat dan akurat dengan menggunakan spektrofotometer.

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan kurva standar dan persamaan regresi dari nilai TPC dan nilai OD yang dapat dijadikan sebagai dasar dalam menghitung kepadatan bakteri *V. harveyi* dengan menggunakan spektrofotometer. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah perhitungan populasi bakteri *V. harveyi* menjadi lebih cepat dan lebih akurat. Pelaksanaan praktikum ataupun penelitian dapat berjalan dengan normal sesuai dengan target waktu yang ditetapkan.

METODE PENELITIAN

Lokasi Penelitian dan lama Penelitian

Penelitian ini berlangsung selama kurang lebih 6 bulan yang dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Laboratorium Basah Jurusan Budidaya Perikanan Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.

Bahan Dan Alat Penelitian

Bakteri *V. harveyi* sebagai bakteri uji bersumber dari BBBAP Maros, media TSA sebagai media tumbuh, larutan fisiologis sebagai larutan pengencer, alkohol untuk sterilisasi, akuades sebagai pelarut media dll. Peralatan yang dibutuhkan adalah inkubator, oven, autoclave, vortex mixer, laminar air flow dan peralatan penunjang untuk inokulasi.

Kegiatan Penelitian

Persiapan bakteri *V. harveyi*

V. harveyi dikultr pada media plate selama 24 jam, selanjutnya dipanen sebanyak 1 ose dimasukkan ke dalam 10 ml larutan fisiologis, divortex hingga homogen. Dilakukan seri pengenceran hingga 10 kali. Masing-masing seri pengenceran dikultur pada media plate (duplo) untuk menghitung populasi bakteri di setiap pengenceran. Dalam waktu yang sama juga dilakukan perhitungan absorbansi dari setiap seri pengenceran.

Perhitungan dengan Total Plate Count (TPC)

1. Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan.
2. Mengencerkan media PCA dalam air mendidih.
3. Mendinginkan agar antara 5-10 menit.
4. Menuangkan agar ke cawan petri dan biarkan membeku.
5. Menyiapkan 10 tabung reaksi dan beri kode 1-10.
6. Tabung 1 diisi dengan TSB + biakan murni *V. harveyii* dan tabung 2-10 masing-masing diisi dengan 9 ml media TSB
7. Sebanyak 1 ml dari tabung 1 dipindahkan ke tabung ke-2, lalu dihomogenkan.
8. Sebanyak 1 ml dari tabung 2 dipindahkan ke tabung ke-3, lalu dihomogenkan.
9. Kegiatan yang sama dilakukan hingga mencapai tabung ke-10.
10. Masing-masing 0,1 ml di ambil dari tabung 1-10 kemudian dikultur pada masing-masing media plate yang berbeda.
11. Cawan petri di beri label sesuai pengencerannya dan direkatkan dengan para filem.
12. Inkubasi selama 18-24 jam
13. Setelah diinkubasi lakukan pengamatan. Menghitung cawan yang tumbuh bakteri 30-300 saja.
14. Membersikan dan membereskan alat dan bahan yang digunakan

Populasi *V. harveyi* dari setiap pengenceran dihitung dengan metode TPC. Rumus menghitung populasi bakteri menggunakan SNI-01-2332-2006.

Pengukuran menggunakan metode spectrophotometer

- a) Menyiapkan semua alat dan bahan yang akan digunakan.
- b) Memastikan alat dalam kondisi baik, nyalakan mesin dengan menekan tombol 'power' di bagian belakang mesin.
- c) Menekan tombol A/T/C, pilih absorbance (A).
- d) Membersihkan cuvet dengan aquades, keringkan dengan tisu.
- e) Mengukur absorbansi blanko dengan memasukkan larutan blanko (TSB) ke dalam cuvet (volume minimal hingga $\frac{3}{4}$ dari tinggi cuvet). Bersihkan bagian luar cuvet yang transparan menggunakan tissue.
- f) Memasukkan cuvet ke dalam cell holder pada sample chamber. Cuvet harus diletakkan hingga sampai dasar cell. Tutup sample chamber.
- g) Tekan tombol ABS 100%T untuk mengatur blanko pada konsentrasi 0
- h) Pilih panjang gelombang yang akan digunakan untuk mengukur sampel 550-600 nm.
- i) Mebersihkan cuvet dan menyiapkan sampel yang akan diukur (seri pengenceran dari metode TPC), pastikan sampel homogen sebelum memasukkan ke dalam cuvet.
- j) Memasukkan sampel ke dalam cuvet hingga volume minimal $\frac{3}{4}$ dari tinggi cuvet. Pastikan bagian luar cuvet bersih. Memasukkan cuvet ke dalam cell holder, tutup sample chamber.
- k) Membaca absorbansi-nya lalu mencatat datanya setelah selesai ambil kuvet dan membersihkan semua alat dan bahan yang digunakan.

Pengumpulan data

Untuk mendapatkan data yang akurat maka pengambilan data dilakukan tiga siklus. Siklus pertama adalah pengambilan data perhitungan TPC dan absorbansi dari 10 seri pengenceran. siklus kedua dan ketiga adalah mengulangi kembali kegiatan perhitungan TPC dan absorbansi dari 10 seri pengenceran.

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan excel dengan membuat kurva standar dari nilai TPC dengan nilai OD dari setiap pengenceran, sehingga lahir suatu persamaan regresi dan nilai koefisien untuk melihat tingkat kepercayaan dari data yang ada.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perhitungan Populasi Bakteri *V. harveyi* dengan Metode TPC

Metode TPC merupakan analisis untuk menguji jumlah mikroba dengan menggunakan metode pengenceran dan metode cawan tuang. Metode ini dilakukan dengan mengencerkan sumber isolate yang telah diketahui beratnya ke dalam 9 ml larutan garam fisiologis, larutan yang digunakan sekitar 1 ml suspensi ke dalam cawan petri steril, dilanjutkan dengan menuangkan media penyubur (nutrient agar), NA / media penyubur merupakan nutrisi untuk makanan mikroba.

Perhitungan kepadatan populasi *V. harveyi* dengan menggunakan metode TPC dilakukan secara duplo. Perhitungan TPC berdasarkan lempeng total, merupakan cara yang paling umum digunakan untuk menentukan jumlah mikroba yang masih hidup, berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh. Metode ini diawali dengan pengenceran sampel secara seri, dengan kelipatan 1 : 10. Masing-masing suspensi pengenceran ditanam dengan metode tuang (pour plate) atau sebar (spread plate). Bakteri akan bereproduksi pada medium agar dan membentuk koloni setelah 18-24 jam masa inkubasi (Arifanto, 2008). Hasil perhitungan dari setiap seri pengenceran bakteri dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Rata-rata kepadatan *V. harveyi* dari setiap seri pengenceran yang dinyatakan dalam sell/ml

No.	Seri pengenceran	Rata-rata kepadatan <i>V. harveyi</i> (sell/mL)
1	10 ⁰	1,7 x 10 ¹⁰
2	10 ⁻¹	2,3 x 10 ⁹
3	10 ⁻²	1.5 x 10 ⁸
4	10 ⁻³	7,4 x 10 ⁷
5	10 ⁻⁴	6,7 x 10 ⁶
6	10 ⁻⁵	5.8 x 10 ⁵
7	10 ⁻⁶	1,6 x 10 ⁴
8	10 ⁻⁷	3,9 x 10 ³
9	10 ⁻⁸	5,3 x 10 ²
10	10 ⁻⁹	2,6 x 10 ¹

Data pada tabel menunjukkan bahwa seri pengenceran berbanding terbalik dengan kepadatan bakteri *V. harveyi*. Semakin tinggi seri pengenceran maka hasil perhitungan kepadatan bakteri semakin kecil. Hal ini disebabkan karena kandungan sel bakteri yang terlarut semakin encer atau semakin berkurang.

Pengenceran sel dapat membantu untuk memperoleh perhitungan jumlah mikroorganisme yang benar. Namun pengenceran yang terlalu tinggi akan menghasilkan lempengan agar dengan jumlah koloni yang umumnya relatif rendah (Hadioetomo, 1996). Pada metode perhitungan cawan dilakukan pengenceran yang bertingkat yang bertujuan untuk membentuk konsentrasi dari suatu suspensi bakteri. Sampel yang telah di encerkan ini dituang ke dalam cawan baru kemudian di tuang ke mediumnya (metode tuang). Selanjutnya diinkubasi selama 24- 48 jam, amati koloni yang tumbuh dan koloni yang diamati hanyalah koloni yang berjumlah 30- 300 koloni (Gobel, 2008).

Tingkat pengenceran yang diperlukan didasarkan pada pendugaan populasi bakteri yang ada dalam sampel. Hasil yang baik adalah jika pada pengenceran yang lebih rendah sampel yang diduga lebih banyak menunjukkan hasil uji positif (adanya pertumbuhan bakteri) dan pada pengenceran lebih tinggi contoh yang diduga lebih sedikit menunjukkan hasil uji negatif (tidak ada atau kurang

pertumbuhan bakteri). Oleh karena itu jumlah populasi bakteri yang ada dalam sampel diduga tinggi maka contoh harus diencerkan sampai diperoleh tingkat pengenceran yang lebih tinggi sehingga nilai maksimum dapat dihitung. Metoda pengenceran yang paling mudah dengan melakukan pengenceran 10 kali lipat dengan menggunakan 3 atau 5 tabung pengenceran sekaligus (Fardiaz dan Srikandi, 1992). Beberapa cara penghitungan jumlah mikrobia yaitu cara penghitungan pada lempeng pembiakan, cara menghitung langsung (metode kaca objek), metode ukur kekeruhan, metode turbidimetri dan nefelometri serta dengan jumlah perkiraan terdekat (JPT). Cara penghitungan pada lempeng pembiakan disebut juga metode penghitungan bakteri hidup atau metode penghitungan koloni. Penghitungan koloni dilakukan penyimpanan pada suhu yang sesuai. Oleh karena itu, suatu bakteri dapat tumbuh menjadi satu koloni yang terhitung mewakili jumlah bakteri hidup yang terdapat dalam tiap volum pengenceran yang digunakan.

Pengukuran *Optical Density* (OD) Menggunakan spectrophotometer

Pengukuran OD menggunakan Spektrofotometer dengan melihat nilai absorbansinya. Kerja spektrofotometer yakni dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu

sesuai jenis atom pada suatu obyek kaca yang disebut kuvet. Sebagian cahaya akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang dilewatkan sebanding dengan konsentrasi larutan OD dalam kuvet. Aplikasi absorbansi ini digunakan untuk menganalisa kandungan bahan tertentu.

Absorbansi larutan bakteri *V. harveyi* yang diukur dengan spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 620 nm dengan larutan standar ddH₂O menunjukkan bahwa semakin tinggi seri pengenceran maka semakin rendah nilai absorbansinya. Pengukuran seri

pengenceran dimulai dari larutan stok hingga pengenceran yang ke 9. Kegiatan pengukuran absorbansi dari kultur biakan bakteri *V. harveyi* dilakukan dua kali pengulangan. Kegiatan ulangan dilakukan di lain waktu dengan mengulangi kembali semua deretan kegiatan yaitu persiapan bakteri, membuat seri pengenceran, perhitungan dengan TPC dan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer dengan harapan bahwa data rata-rata TPC dan absorbansi yang dihasilkan lebih akurat. Data hasil pengukuran absorbansi dari larutan *V. harveyi* dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 2. Nilai absorbansi larutan *V. harveyi* dengan menggunakan panjang gelombang 620 nm.

No	Seri pengenceran	Nilai rata-rata absorbansi density dengan panjang gelombang 620 nm
1	10 ⁰	1,470
2	10 ⁻¹	1,399
3	10 ⁻²	1,102
4	10 ⁻³	0,828
5	10 ⁻⁴	0,570
6	10 ⁻⁵	0,392
7	10 ⁻⁶	0,265
8	10 ⁻⁷	0,187
9	10 ⁻⁸	0,111
10	10 ⁻⁹	0,079

Keuntungan utama metode spektrofotometer adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan

Demikian halnya dengan bakteri, kepadatan populasi akan terbaca berdasarkan kekeruhannya, Mikroba dalam suatu bahan cair dapat dideteksi berdasarkan kekeruhannya. Pertumbuhan sel bakteri didalam suatu medium cair akan meningkatkan kekeruhan media, yang akan mempengaruhi jumlah sinar yang dapat

ditransmisikan menembus medium (Widi, 2012).

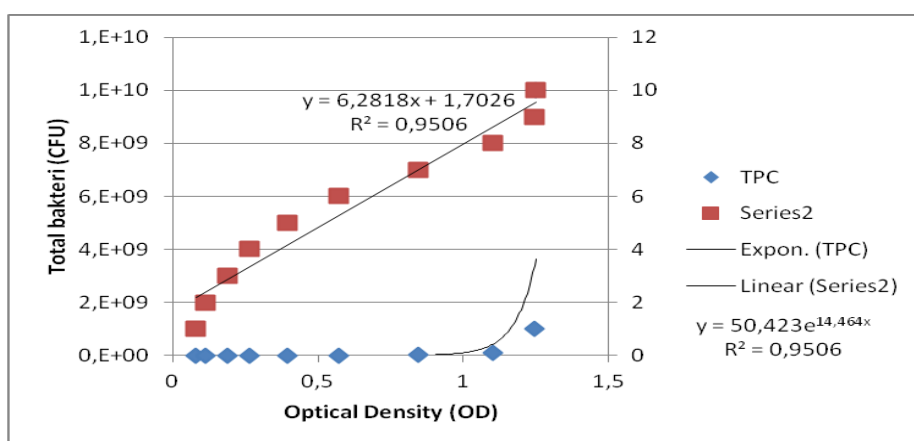
Dalam penelitian ini, absorbansi dari setiap seri pengenceran *V. harveyi* terdeteksi dengan baik, interval kenaikan absorbansi juga tidak berbeda nyata yakni setiap kenaikan seri pengenceran maka interval nilai penurunan absorbansi berkisar ± 0,034 - 0,331 atau dengan kata lain bahwa pengenceran terendah ke pengenceran setingkat lebih tinggi mengalami interval penurunan absorbansi ± 0,331 dan pengenceran tertinggi dengan setingkat ke bawah mengalami penurunan absorbansi ± 0,034.

Kurva Standar

Setiap bakteri memiliki kurva standar pertumbuhan yang berbeda-beda.

Metode perhitungan jumlah sel yang digunakan dalam pembuatan kurva standar pada penelitian ini, adalah dengan menggunakan metode TPC, dan yang kedua dengan menggunakan spektrofotometer panjang gelombang yang digunakan adalah 620 nm untuk melihat tingkat kekeruhan yang terbaca melalui nilai absorbansi yang dihasilkan. Menurut Febriyansari (2008), panjang gelombang 600-625 digunakan untuk melihat tingkat kekeruhan untuk larutan yang berwarna kuning sampai coklat.

Berdasarkan data pada tabel 1 dan tabel 2 kemudian dibuatkan kurva standar. Kurva standar merupakan suatu kurva untuk menghitung jumlah sel bakteri secara tidak langsung, yaitu dengan meregresikan nilai OD dan jumlah bakteri kedalam persamaan garis kurva standar $y = ax + b$, dimana y = jumlah koloni, dan x = besarnya nilai OD. Kurva standar dan persamaan dari data TPC dan OD dapat dilihat pada gambar 1 berikut ini:



Gambar 1. Kurva Standar Pertumbuhan bakteri *V. harveyi*

Hasil analisis regresi menunjukkan bahwa, ada hubungan korelasi antara nilai OD dengan jumlah koloni atau mempunyai pola linier. Semakin tinggi kepadatan bakteri maka nilai OD juga semakin tinggi. Hubungan kedua parameter tersebut mempunyai persamaan $y = 6,2818x + 1,7026$ dengan nilai korelasi (r) = 0,9506. Artinya bahwa, setiap peningkatan nilai absorbansi (OD) diikuti oleh meningkatnya jumlah bakteri. Nilai korelasi yang mendekati angka 1 menunjukkan bahwa tingkat kepercayaan pada kurva standar dan persamaan mendekati sempurna. Berdasarkan persamaan tersebut, maka kepadatan bakteri *V. harveyi* dapat diketahui dengan menggunakan persamaan diatas setelah dilakukan pengukuran OD.

Beberapa kelebihan dari perhitungan kepadatan bakteri *V. harveyi* dengan menggunakan persamaan diatas, diantaranya adalah penghematan media

kultur dan waktu yang dibutuhkan cukup singkat sehingga memudahkan dalam kegiatan praktikum mahasiswa maupun penelitian. Metode pengukuran populasi bakteri *V. harveyi* dengan melihat OD merupakan metode praktis digunakan di laboratorium.

KESIMPULAN

Hasil analisis regresi dari nilai TPC dengan nilai OD menunjukkan pola linier, hal ini berarti bahwa ada hubungan korelasi antara nilai OD dengan jumlah koloni. Hubungan kedua parameter tersebut mempunyai persamaan $y = 6,2818x + 1,7026$ dengan nilai korelasi (r) = 0,9506. Nilai korelasi yang mendekati angka 1 menunjukkan bahwa tingkat kepercayaan pada kurva standar dan persamaan mendekati sempurna.

Perhitungan populasi bakteri *V. harveyi* dapat dilakukan dengan meregresikan nilai OD dan jumlah bakteri kedalam persamaan garis kurva standar y

= $6,2818x + 1,7026$, dimana y = jumlah kepadatan bakteri, dan x = besarnya nilai OD.

Metode pengukuran kepadatan populasi bakteri *V. harveyi* dengan menggunakan spektrofotometer merupakan metode cepat dan praktis digunakan di laboratorium dengan beberapa kelebihan diantaranya penghematan media kultur dan waktu yang dibutuhkan cukup singkat.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifanto, 2008. Menghitung Mikroba Pada Bahan Makanan. Farmasi FMIPA. ITB. Bandung.
- Desrina, Taslihan, A., Ambarianto, Susiani, S. 2006. Uji Keganasan Bakteri *Vibrio* sp pada Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). J.Illmu Kelautan UNIP: 11(3):119-125.
- Fardiaz, Srikandi. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. Gramedia: Jakarta.
- Feliatra, F, Titania, Silalahi, S., Octavia, AY. 2011. Skrining Bakteri *Vibrio* Sp Asli Indonesia Sebagai Penyebab Penyakit Udang Berbasis Tehnik 16sribosomal Dna. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis, Vol. 3, No. 2, Hal. 85-99.
- Gobel, Risco, B., dkk. 2008. Mikrobiologi Umum Dalam Praktek. Universitas Hasanuddin: Makassar.
- Hadioetomo, R. 1990. Mikrobiologi Dasar-Dasar Dalam Praktek. Gramedia: Jakarta.
- Mariyono, Sutomo, A.W. 2002. Teknik Penanggulangan Penyakit Udang Menyala Melalui Pengendalian Bakteri Di Laboratorium. Buletin Teknik Pertanian. 7 (1).
- Nasmia. 2007. Pathogenitas Beberapa Bakteri *Vibrio* sp Terhadap Udang windu (*Penaeus mondon*). J. Agroland: 14 (1) :82-85.
- Sinta, S.N. 2012. Praktikum Mikrobiologi Dasar. Trans Info Media, Jakarta.
- Widi, I.K. 2012. Perhitungan Bakteri. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.