

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian uji antibakteri fraksi *n*-heksan, eter, dan air dari ekstrak etanolik daun jambu mede (*Anacardium occidentale*) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

Pertama, hasil fraksi *n*-heksana, eter, dan air dari ekstrak etanolik daun jambu mede mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Kedua, diameter zona hambat aktivitas antibakteri hasil fraksi *n*-heksana; eter; dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun jambu mede pada konsentrasi 50 %, 25 %, dan 12,5 % terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 berturut-turut adalah 16,7 mm, 15,3 mm, 14,3 mm ; 21,7 mm, 20,3 mm, 19 mm ; 15,3 mm, 14,3 mm, 13,3 mm.

Ketiga, fraksi eter mempunyai aktifitas antibakteri paling efektif terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian dengan metode difusi menggunakan konsentrasi sampel uji kurang dari 12,5%.

Kedua, perlu dilakukan penelitian dengan metode difusi menggunakan konsentrasi kontrol positif (kotrimoksazol) kurang dari 15%.

Ketiga, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode penyarian yang lain.

Keempat, perlu dilakukan penelitian dengan metode dilusi.

Kelima, perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan bakteri lain.

DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 2008. *Khasiat Jambu Mede*. <http://cybermed.cbn.net.id/cbprtl/cybermed/detail.aspx?x=Natural+Healing&y=cybermed|10|0|3|56> [5 Februari 2012]
- [Departemen Kesehatan RI]. 1979. *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1983. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 5-10.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1989. *Materi Medika Indonesia*. Jilid 5. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 1-2.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke – 4. Farida Ibrahim, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*.
- Arekemase MO, Oyeyiola GP, Aliyu MB. 2011. Antibacterial Activity of *Anacardium occidentale L.* on Some Enterotoxin Producing Bacteria. *International Journal of Biology* 3:92-99.
- Bonang G dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia. hlm 77-78, 176-191.
- Breed RS, Murray EGD, Smith NR. 1957. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7th ed. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.
- Dalimartha S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Cetakan 2. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Cetakan 1. Jakarta: Trubus Agriwidya.

- Dwijoseputro D. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Djambantan. hlm 121 – 131.
- Elistina MD. 2005. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dari Daun Sirih (*Piper betle* L) [Skripsi]. Denpasar: FMIPA, Universitas Udayana.
- Ganiswarna SG, Setiabudy R, Suyatna FD, Purwastyastuti, Nafrialdi, editor. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke-4. Jakarta: FK UI.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat (Farmakognosi)*. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 13.
- Hadioetomo. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia. Hlm 44.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed ke-2. Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro, penerjemah; Bandung: Institut Teknologi Bandung. hlm 102-103. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hariana A. 2004. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Ed ke-16. Gerard Bonang, penerjemah; Jakarta: EGC. hlm 239, 241-243. Terjemahan dari: *Review of Medical Mikrobiology*.
- Juliantina F, Citra DW, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo ET. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakteri terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran Indonesia* : 3.
- Kristijono A. 2008. *Obat Tradisional dan Fitofarmaka*. Kediri: Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri.
- Kusdarwati R, Sari L, Taufiq AM. 2010. Antibacterial effort of adas fruits (*Foeniculum vulgare*) extract on *Micrococcus luteus* bacterial by in vitro. *Jurnal ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 2(1) : 31-35.
- Noer HMS, Waspadji S, Rachman AM, Lesmana LA, Widodo D, Isbagio H, Alwi I, Husodo UB. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Ed ke-3. Jakarta: PAPDI. hlm: 458-459.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga. hlm: 154 – 160.
- Radji M. 2009. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Raina. 2011. *Ensiklopedi Tanaman Obat untuk Kesehatan*. Yogyakarta: Absolut

- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Kosasih Padwawinata, penerjemah; Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *The Organic Constituents of Higher Plants*.
- Soetarno S. 1990. *Terpenoid*. Bandung : Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati ITB.
- Suriawiria U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Angkasa. hlm: 60-65.
- Suryono. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Wiyata.
- Tyler VE, and Claus EP. 1961. *Pharmacognosy*. 5th ed. Philadelphia: Lea and febiger.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Ed ke-5. Soendani Noerono Soewandi, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 561, 564. Terjemahan dari: *Pharmaceutical Technology Textbook*.



**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA**

Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281
Telp. : 0274.542738, 0274.648.2568 Fax. +274-543120

SURAT KETERANGAN

No. : BF/gg/Ident/Det/VII/2012

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Dewi Putri M
NIM. 14082459 A
Universitas Setia Budi
Di Surakarta

Dengan hormat,
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi sampel yang saudara kirimkan ke Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah:

No. Pendaftaran	Jenis	Suku
193	<i>Anacardium occidentale</i> L.	Anacardiaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 3 Juli 2012
Ketua Bagian Biologi Farmasi
Fakultas Farmasi UGM



Dr. Wahyono, SU., Apt.
NIP. 195007011977021001

Lampiran 2. Foto tanaman jambu mede, serbuk dan ekstrak etanolik daun jambu mede



Foto tanaman jambu mede



Foto serbuk daun jambu mede



Foto ekstrak etanol 96 % daun jambu mede

Lampiran 3. Foto alat-alat yang digunakan

Alat timbang analisa



Oven



Penggiling



(Pengayak)



Moizture balance



Botol maserasi



Fraksi *n*-heksana dan air

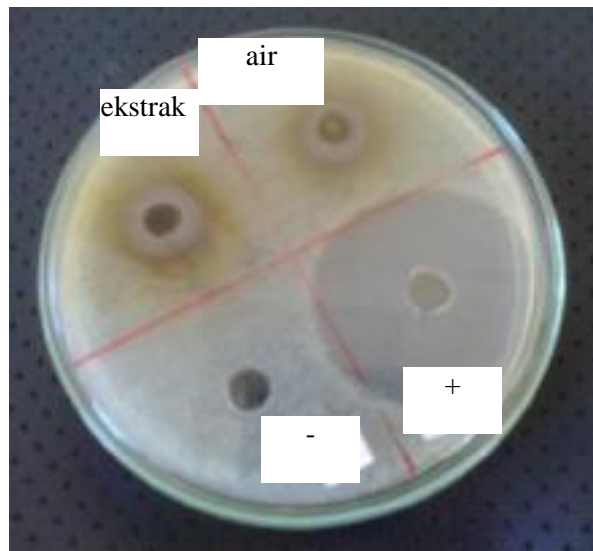


Fraksi eter dan air

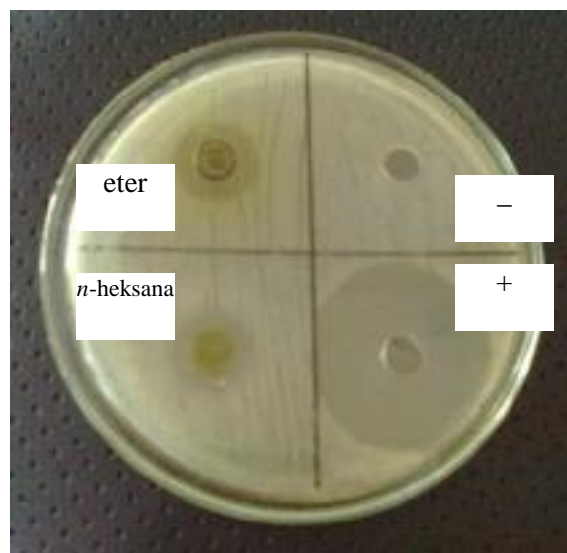


incubator

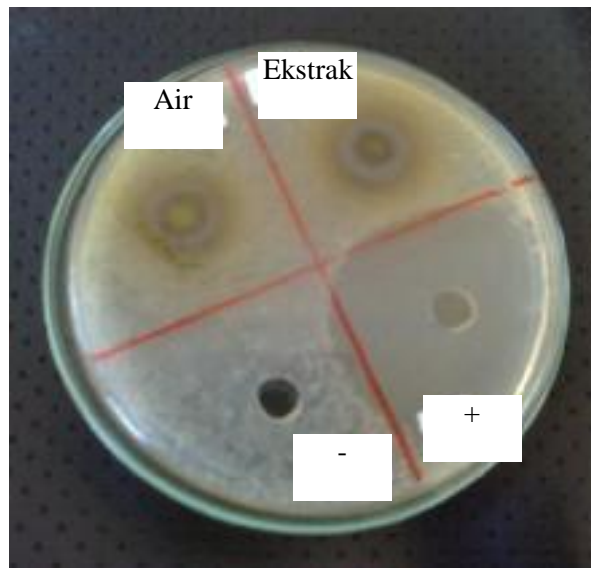
Lampiran 4. Foto hasil uji difusi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi eter, dan fraksi air daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.



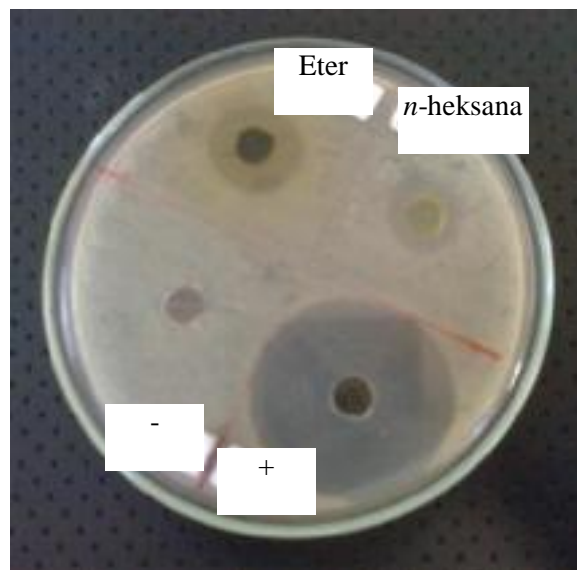
Hasil uji difusi ekstrak etanol dan fraksi air konsentrasi 50%



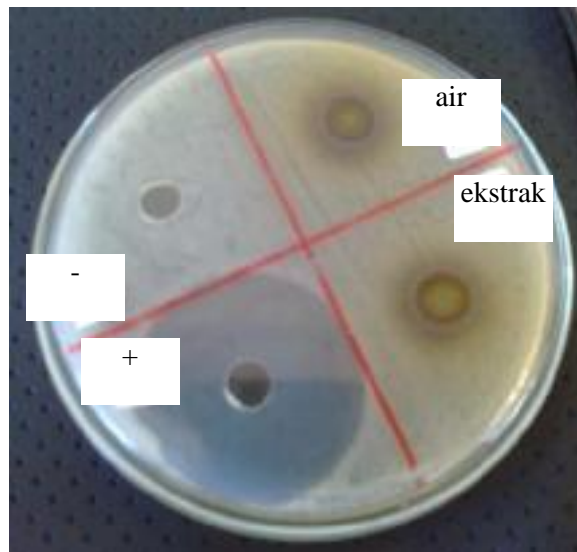
Hasil uji difusi fraksi *n*-heksana dan fraksi eter konsentrasi 50%



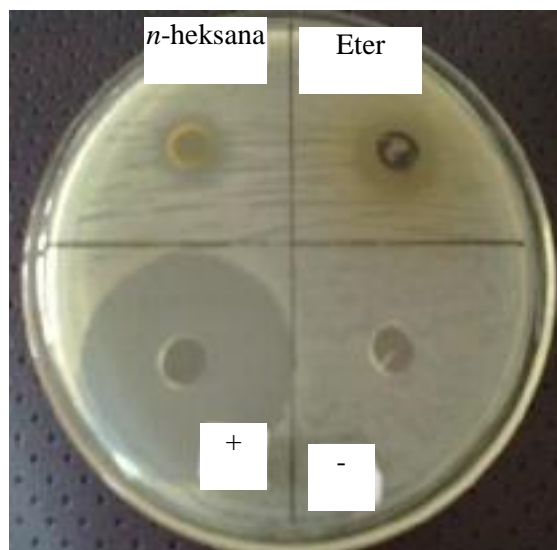
Hasil uji ekstrak etanol dan fraksi air konsentrasi 25%



Hasil uji difusi fraksi *n*-heksana dan fraksi eter konsentrasi 25%



Hasil uji difusi ekstrak etanol dan fraksi air konsentrasi 12,5%



Hasil uji difusi fraksi *n*-heksana dan fraksi eter konsentrasi 12,5%

Lampiran 5. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun jambu mede

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% ^b / _b)
3200	1042	32.562 %

$$\text{Rendemen serbuk} = \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen serbuk} = \frac{1042}{3200} \times 100 \% = 32,562 \%$$

Lampiran 6. Perhitungan susut pengeringan serbuk daun jambu mede

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu mede

No	Waktu (menit)	Suhu (⁰ C)	Bobot awal (g)	Bobot Bahan (g)	Susut pengeringan (%)
1	6.47	114	2,000	1,85	7,5
2	9.15	115	2,000	1,85	7,5
3	7.23	115	2,000	1,85	7,5
Rata-rata					7,5

$$\text{Susut pengeringan serbuk daun jambu mede} = \frac{7,5+7,5+7,5}{3} \times 100\% = 7,5 \%$$

Lampiran 7. Perhitungan rendemen hasil ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, fraksi eter, dan fraksi air daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.)

1. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun jambu mede

Hasil ekstrak etanolik daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.)

Serbuk daun jambu mede (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen ekstrak (% ^b / _b)
200	86	43 %

$$\text{Rendemen ekstrak etanolik} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (gram)}}{\text{bobot serbuk (gram)}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen ekstrak etanolik} = \frac{86}{200} \times 100 \% = 43 \%$$

2. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana daun jambu mede

Hasil fraksi *n*-heksana daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.)

Bobot ekstrak maserasi (gram)	Bobot fraksi (gram)	Persen rendemen
10	1,39	13,9 %
10	1,43	14,3 %
10	1,45	14,5 %
Prosentase rata-rata		14,23%

$$\text{Rendemen fraksi } n\text{-heksana} = \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{bobot ekstrak maserasi}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi } n\text{-heksana} = \frac{1,39}{10} \times 100 \% = 13,9 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi } n\text{-heksana} = \frac{1,43}{10} \times 100 \% = 14,3 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi } n\text{-heksana} = \frac{1,45}{10} \times 100 \% = 14,5 \%$$

3. Perhitungan rendemen fraksi eter daun jambu mede

Hasil fraksi eter daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.)

Bobot ekstrak maserasi (gram)	Bobot fraksi (gram)	Persen rendemen
10	2,87	28,7 %
10	2,75	27,5 %
10	2,81	28,1 %
Prosentase rata-rata		28,1 %

$$\text{Rendemen fraksi eter} = \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{bobot ekstrak maserasi}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi eter} = \frac{2,87}{10} \times 100 \% = 28,7 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi eter} = \frac{2,75}{10} \times 100 \% = 27,5 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi eter} = \frac{2,81}{10} \times 100 \% = 28,1 \%$$

4. Perhitungan rendemen fraksi air daun jambu mede

Hasil fraksi air daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.)

Bobot ekstrak maserasi (gram)	Bobot fraksi (gram)	Persen rendemen
10	4,76	47,6 %
10	4,84	48,4 %
10	4,79	47,9 %
Prosentase rata-rata		47,96 %

$$\text{Rendemen fraksi air} = \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{bobot ekstrak maserasi}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi air} = \frac{4,76}{10} \times 100 \% = 47,6 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi air} = \frac{4,84}{10} \times 100 \% = 48,4 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi air} = \frac{4,79}{10} \times 100 \% = 47,9 \%$$

Lampiran 8. Pembuatan larutan uji pada metode difusi

- Pembuatan larutan uji konsentrasi 50 % ^b/_v sebanyak 2 ml

$$50 \% = \frac{50 \text{ g}}{100 \text{ ml}}$$

$$= \frac{1 \text{ g}}{2 \text{ ml}}$$

Menimbang 1 gram ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi eter, dan fraksi air yang diperoleh dilarutkan ad 2 ml DMSO 1% dengan pipet volume.

- Pembuatan larutan uji konsentrasi 25 % ^b/_v sebanyak 2 ml

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \times 50 = V_2 \times 25$$

$$V_2 = 2$$

Mengambil 1 ml larutan uji konsentrasi 50% kemudian dilarutkan dengan DMSO 1% ad 2 ml.

- Pembuatan larutan uji konsentrasi 12,5 % ^b/_v sebanyak 2 ml

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \times 25 = V_2 \times 12,5$$

$$V_2 = 2$$

Mengambil 1 ml larutan uji konsentrasi 25% kemudian dilarutkan dengan DMSO 1% ad 2 ml.

Lampiran 9. Analisa statistik data diameter hambatan

Diameter hambatan fraksi *n*-heksana, eter, dan air dari ekstrak etanolik daun jambu mede terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

Kandungan uji	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata
		Replikasi			
		1	2	3	
Ekstrak etanol	50%	19	18	20	19,0
	25%	17	17	18	17,3
	12,5%	15	16	17	16,0
<i>n</i> -Heksana	50%	16	17	17	16,7
	25%	15	16	15	15,3
	12,5%	14	15	14	14,3
Eter	50%	22	21	22	21,7
	25%	20	20	21	20,3
	12,5%	19	18	20	19,0
Air	50%	15	15	16	15,3
	25%	14	14	15	14,3
	12,5%	13	13	14	13,3
Kontrol positif (+)		40	40	40	40
Kontrol negatif (-)		0	0	0	0

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
zona hambat	42	17.33	8.096	0	40

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		zona hambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	17.33
	Std. Deviation	8.096
Most Extreme Differences	Absolute	.225
	Positive	.211
	Negative	-.225
Kolmogorov-Smirnov Z		1.457
Asymp. Sig. (2-tailed)		.029

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil : nilai sig (0,029) < 0,05 artinya data **tidak terdistribusi secara normal.**

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

		Ranks	
sampel uji		N	Mean Rank
zona hambat	ekstrak etanol 50%	3	30.67
	ekstrak etanol 25%	3	25.33
	ekstrak etanol 12,5%	3	19.17
	fraksi n-heksana 50%	3	22.50
	fraksi n-heksana 25%	3	15.83
	fraksi n-heksana 12,5%	3	10.00
	fraksi eter 50%	3	37.83
	fraksi eter 25%	3	34.50
	fraksi eter 12,5%	3	30.67
	fraksi air 50%	3	15.83
	fraksi air 25%	3	10.00
	fraksi air 12,5%	3	5.67
	kotrimoksazol 15% (K+)	3	41.00
	pelarut DMSO 1% (K-)	3	2.00
Total		42	

Test Statistics^{a,b}

	zona hambat
Chi-Square	39.591
Df	13
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sampel uji

Hasil : nilai sig (0,000) < 0,05 artinya **distribusi zona hambat ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi eter, fraksi air, kotrimoksazol, dan pelarut DMSO berbeda signifikan.**

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
zona hambat	42	17.33	8.096	0	40
sampel uji	42	7.50	4.080	1	14

Mann-Whitney Test

Ranks

sampel uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	ekstrak etanol 50%	3	4.83	14.50
	ekstrak etanol 25%	3	2.17	6.50
	Total	6		

Test Statistics^b

	zona hambat
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	6.500
Z	-1.798
Asymp. Sig. (2-tailed)	.072
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel uji

Hasil : nilai sig (0,072) > 0,05 artinya mean zona hambat **ekstrak etanol 50% tidak berbeda signifikan** dengan mean zona hambat **ekstrak etanol 25%**

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
zona hambat	42	17.33	8.096	0	40
sampel uji	42	7.50	4.080	1	14

Mann-Whitney Test

Ranks

sampel uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	ekstrak etanol 50%	3	5.00	15.00
	fraksi n-heksana 50%	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sampel uji

Hasil : nilai sig (0,046) < 0,05 artinya mean zona hambat **ekstrak etanol 50%** berbeda signifikan dengan mean zona hambat **fraksi n-heksana 50%**

Hasil signifikasi uji Mann-Whitney zona hambat ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi eter, fraksi air, kotrimoksazol 15% (kontrol positif), dan pelarut DMSO (kontrol negatif)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	-	0,072	0,050	0,046*	0,046*	0,046*	0,046*	0,105	1,000	0,046*	0,046*	0,046*	0,037*	0,037*
2	0,072	-	0,105	0,197	0,043*	0,043*	0,043*	0,043*	0,072	0,043*	0,043*	0,043*	0,034*	0,034*
3	0,050	0,105	-	0,346	0,346	0,072	0,046*	0,046*	0,050	0,346	0,072	0,046*	0,037*	0,037*
4	0,046*	0,197	0,346	-	0,068	0,043*	0,043*	0,043*	0,046*	0,068	0,043*	0,043*	0,034*	0,034*
5	0,046*	0,043*	0,346	0,068	-	0,099	0,043*	0,043*	0,046*	1,000	0,099	0,043*	0,034*	0,034*
6	0,046*	0,043*	0,072	0,043*	0,099	-	0,043*	0,043*	0,046*	0,099	1,000	0,099	0,034*	0,034*
7	0,046*	0,043*	0,046*	0,043*	0,043*	0,043*	-	0,068	0,046*	0,043*	0,043*	0,043*	0,034*	0,034*
8	0,105	0,043*	0,046*	0,043*	0,043*	0,043*	0,068	-	0,105	0,043*	0,043*	0,043*	0,034*	0,034*
9	1,000	0,072	0,050	0,046*	0,046*	0,046*	0,046*	0,105	-	0,046*	0,046*	0,046*	0,037*	0,037*
10	0,046*	0,043*	0,346	0,068	1,000	0,099	0,043*	0,043*	0,046*	-	0,099	0,043*	0,034*	0,034*
11	0,046*	0,043*	0,072	0,043*	0,099	1,000	0,043*	0,043*	0,043*	0,099	-	0,099	0,034*	0,034*
12	0,046*	0,043*	0,046*	0,043*	0,043*	0,099	0,043*	0,043*	0,046*	0,043*	0,099	-	0,034*	0,034*
13	0,037*	0,034*	0,037*	0,034*	0,034*	0,034*	0,034*	0,034*	0,037*	0,034	0,034	0,034	-	0,025*
14	0,037*	0,034*	0,037*	0,034*	0,034*	0,034*	0,034*	0,034*	0,037*	0,034*	0,034*	0,034*	0,025*	-

Ket:

- 1 = ekstrak etanol 96% 50%
- 2 = ekstrak etanol 96% 25%
- 3 = ekstrak etanol 96% 12,5%
- 4 = fraksi *n*-heksana 50%
- 5 = fraksi *n*-heksana 25%
- 6 = fraksi *n*-heksana 12,5%
- 7 = fraksi eter 50%
- 8 = fraksi eter 25%
- 9 = fraksi eter 12,5%
- 10 = fraksi air 50%
- 11 = fraksi air 25%
- 12 = fraksi air 12,5%
- 13 = kotrimoksazol 15% (kontrol positif)
- 14 = DMSO 1% (kontrol negatif)
- * = terdapat perbedaan yang signifikan

Lampiran 10. Formulasi dan pembuatan mediaa. Formulasi dan pembuatan *Salmonella Shigella Agar* (SSA)

Meat extract	5,0 gram
Peptone from meat	5,0 gram
Lactose	10,0 gram
Oxbile Dried	8,5 gram
Sodium citrate	10,0 gram
Sodium thiosulfate	8,5 gram
Iron (III) citrate	10,0 gram
Brilliant green	0,0003 gram
Neutral red	0,025 gram
Agar-agar	12,0 gram
pH	7,0 ± 0,1

Semua bahan dilarutkan dalam aquades sampai 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, didiamkan sampai suhunya 50° C kemudian dituangkan dalam cawan petri.

b. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion solids	12,5 gram
Beef heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium phosphate	2,5 gram

Semua bahan dilarutkan dalam aquades sampai 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 10 ml, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121° C selama 15 menit.

c. Formulasi dan pembuatan *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Beef, dehydrated infusion from	300,0 gram
Casein hydrolysate	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Agar	17,0 gram

Semua bahan dilarutkan dalam 1 L aquadest steril, dipanaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit, kemudian dituangkan dalam cawan petri.

d. Formulasi dan pembuatan *Sulfida Indol Motility* (SIM)

Peptone from casein	20,0 gram
Peptone from meat	6,6 gram
Ammonium iron (II) citrate	0,2 gram
Agar-agar	3,0 gram
pH	7,3 ± 0,1

Semua bahan dilarutkan dalam aquades sampai 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

e. Formulasi dan pembuatan *Kliger Iron Agar* (KIA)

Meat extract	3,0 gram
Yeast extract	3,0 gram

Peptone from casein	15,0 gram
Peptone from meat	5,0 gram
Lactose	10,0 gram
D(+) glucose	1,0 gram
Ammonium iron (III) citrate	0,5 gram
Sodium chloride	5,0 gram
Sodium thiosulfate	0,5 gram
Phenol red	0,024 gram
Agar-agar	12,0 gram
pH	7,4 ± 0,1

Semua bahan dilarutkan dalam aquades sampai 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

f. Formulasi dan pembuatan Lysine Iron Agar (LIA)

Peptone from maet	5,0 gram
Yeast extract	3,0 gram
D(+) glucose	1,0 gram
L-lysine monohydrochloride	10,0 gram
Sodium thioslfate	0,04 gram
Ammonium iron (III) citrate	0,5 gram
Bromocresol purple	0,02 gram
Agar-agar	12,5 gram
pH	6,7 ± 0,1

Semua bahan dilarutkan dalam aquades sampai 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

g. Formulasi dan pembuatan Citrat

Ammonium dihydrogen phosphate	1,0 gram
di-potassium hydrogen phosphate	1,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
Sodium citrate	2,0 gram
Magnesium sulfate	0,2 gram
Bromothymol blue	0,08 gram
Agar-agar	12,0 gram
pH	6,9 ± 0,1

Semua bahan dilarutkan dalam aquades sampai 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.