

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil penelitian penapisan bakteri penghasil superoksida dismutase (SOD) dari tanah hutan mangrove Maron Edupark Semarang dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, tanah hutan mangrove Maron Edupark Semarang terdapat isolat bakteri yang menghasilkan enzim superoksida dismutase (SOD).

Kedua, aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) tertinggi yaitu pada isolat bakteri THM1 dengan persentase SOD sebesar 74,51%.

Ketiga, hasil identifikasi molekuler pada isolat bakteri THM1 menunjukkan bahwa spesies bakteri adalah *Bacillus altitudinis* dengan homologi 99%.

B. Saran

Bakteri yang terdapat pada tanah hutan mangrove Maron Edupark Semarang memiliki aktivitas SOD yang tinggi yaitu *Bacillus altitudinis* namun dari karakteristik bakteri tersebut termasuk bakteri patogen. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap bakteri tersebut sehingga SOD yang terdapat pada bakteri *Bacillus altitudinis* dapat diproduksi dan dimanfaatkan sebagai pengobatan atau pemeliharaan kesehatan bagi masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

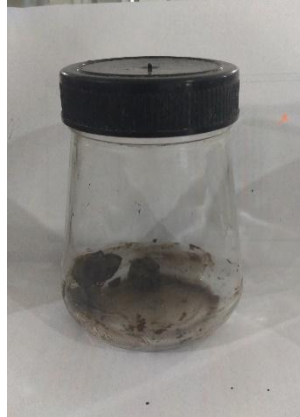
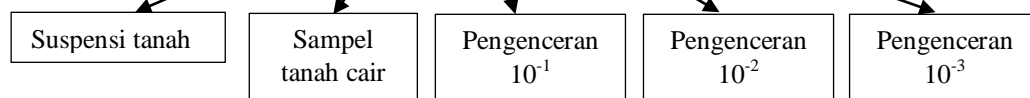
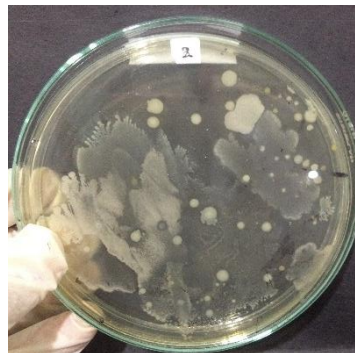
- Aksornkoae S. 1993. *Ecology and management of Mangrove*. Bangkok: The IUCN Wetlannds Programme .
- Andarina R, Tantawi D. 2017. Antioksidan dalam dermatologi. *Jurnal Kedokteran Kesehatan* 4: 39-48.
- Ariandini SW. 2007. aktivitas superoksida dismutase dan patologi anatomi pada hati tikus dengan perlakuan parasetamol dan suplemen kelapa kopyor [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Cowan J. 2004. Education for value. *British Journal of Educational Technology* 35 : 747–759.
- Dharma HS. 2012. Peranan antioksidan endogen dan eksogen terhadap kesehatan. *CDK* 39: 793-794.
- Diana MS. 2018. Produksi dan karakterisasi enzim protease isolat *Bacillus sp.* UJ-132 sebagai kandidat probiotik dari hutan mangrove desa Margasari Lampung Timur [skripsi]. Bandar Lampung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- Fachrul MF. 2012. *Metode Sampling Bioekologi*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Febrina L, Pangestuti DL. 2012. *Mangrove Pilar yang Terlupakan*. Bekasi: PT. Temprina Media Grafika.
- Fitriani D. 2018. Isolasi dan karakterisasi air limbah tambang batu bara loa tebu Tenggaraong Kalimantan timur sebagai penghasil enzim amilase [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Helfrich YR, Sachs DL, Voorhees JJ. 2008. Overview of skin aging and photoaging. *Dermatology Nursing* :Vol. 20 (3).
- Hendra, Hendry I. 2013. *Peningkatan Efektivitas Antioksidan Cu-Zn Superoksida Dismutase dalam Memperlambat Prgresivitas Amyotrophic Lateral Sclerosis*. Jakarta: Medika
- Indrayati A, Valentina Y, Laras AP, Debbie SR. 2011. 16S rDNA-Based identification of novel superoxide dismutase producing bacteria isolated from Indonesia. *Microbiology* 5: 88-89.

- Islamiah DN, Rahmawati, Riza L. 2017. Jenis-jenis bakteri rizosfer kawasan tanah mangrove *avicennia* di kelurahan Terusan, kecamatan Mempawah hilir, Kalimantan barat. *Protobionte* 6:165-172.
- Jawetz, Melnick, Adelberg's. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. Aryandhito WN *et.al.* penerjemah; Adisti A, editor. Jakarta : EGC. Terjemahan dari: Buku Kedokteran EGC
- Jawetz, Melnick, Adelberg's. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Ed.23*. Hartanto H *et al.* penerjemah. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: Medical Microbiology 23th Ed.
- Jumiarti P. 2012. Pemurnian dan karakterisasi protein insektisidal dari bakteri entomopatogen *Serratia marcescens* [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Kathiresan K, Bingham BL. 2001. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. *Advances in Marine Biology* 40: 81-251.
- Koolman J, Roehm K. 2005. *Color Atlas of biochemistry, 2nd edition*. New York: Thieme Stuttgart. Hlm 80-84; 260-263
- Kurniawan A *at al.* 2018. Bakteri selulolitik serasah daun mangrove di pulau bangka. Samakiah: *Jurnal ilmu perikanan* 9 (1).
- Lyla PS, Khan SA. 2006. Marine microbial diversity and ecology: importance and future perspectives. *Current Science*. 90:1325-1335.
- Ming M, Guanhua L, Zhanhai Y, Guang C, Xuan Z. 2009. Effect of the Lycium barbarum polysaccharides administration on blood lipid metabolism and oxidative stress of mice fed high-fat diet in vivo. *Food Chemistry* 113: 872–877.
- Noor R, Mittal S, Iqbal J. 2002. Superoxie dismutase applications and relevance to human diseaes. *Med Schi Monit* 8: 210-215.
- Nurhayati S, Kisananto T, Syaifudin M. 2011. Superoksida Dismutase (SOD): apa dan bagaimana peranannya dalam radioterapi. *Buletin alara* 13: 67-74.
- Nursin A, Wardah, Yusran. 2014. Sifat kimia tanah pada berbagai zonasi hutan mangrove di desa tumpapa kecamatan balinggi kabupaten Parigi Moutong. *Warta rimba* 2: 17-23.
- Nur S, Rumiayati, Endang L. 2017. Skrining aktivitas antioksidan, *antiaging* dan penghambatan tyrosinase dari ekstrak etanolik dan etil asetat daging buah dan kulit buah langsung (*Lansium domesticum* Corr) Secara *In Vitro*. *Traditional Medicine Journal* 22: 63-72.

- Oktaviani EP. 2014. Kualitas dan aktivitas antioksidan minuman probiotik dengan variasi konsentrasi ekstrak buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
- Onrizal. 2008. Panduan pengenalan dan analisis vegetasi hutan mangrove. Sumatera utara: Fakultas pertanian, departemen kehutanan.
- Onrizal, Kusmana C. 2008. Studi ekologi hutan mangrove di pantai timur Sumatera Utara. *Biodiversitas* 9 : 25-29.
- Pananjung AMS, Ulfa EU, Senjarini K, Arimurti S. 2015. Karakterisasi isolat bakteri fibrinolitik WU 021055* asal perairan pantai papuma, Jember. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia* 2:1-8
- Parwanayoni NMS. 2008. Pergantian populasi bakteri heterotrof, algae dan protozoa di lagoon BTDC unit penanganan limbah nusa dua Bali. *Bumi Lestari* vol. 8 : 180-185.
- Pitayu LA. 2007. Penapisan aktivitas superoksida dismutase dan identifikasi spesies dengan metode 16S rDNA dari bakteri asal Indonesia [skripsi]. Bandung: Fakultas Sains dan Teknologi Farmasi, Institut Teknologi Bandung.
- Pratami HA. 2013. Identifikasi mikroorganisme pada tangan tenaga medis dan paramedis di unit perinatologi rumah sakit Abdul Moeloek Bandar Lampung [Skripsi]. Bandar Lampung: Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.
- Puspowardojo IA. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap kadar Superoxide Dismutase (SOD) plasma pada tikus sprague dawley yang terpapar asap rokok [Karya Tulis Ilmiah]. Semarang: Fakultas kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Rahman H, Kartawinata TG, Julianti E. 2012. Uji aktivitas enzim superoksida dismutase dalam ekstrak mesocarp buah merah (*Pandanus conoideus* L.) menggunakan densitometri citra elektroforegram. *Acta Pharmaceutica Indonesia*: 37 (2).
- Rinanda T. 2011. Analisis sekuensing 16S rDNA dibidang mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* 11:172-177
- Sayuti K, Yenrina R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Savira M. 2011. Bakteri Anaerob. *Departemen Mikrobiologi*: Fakultas Kedokteran, Universitas Riau.

- Siburian M. 2011. Aktivitas antioksidan superoksida dismutase pada hati tikus hiperkolesterolemia yang diberi ekstrak kulit mahoni (*Swietenia macrophylla*) [skripsi]. Bogor: Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam, Institut Pertanian Bogor.
- Sinaga RR, Boedi H, Supriharyono. 2017. Deskripsi kawasan hutan mangrove berdasarkan sifat biofisik dan faktor sosial di Maroon Mangrove Edupark desa Tugurejo Semarang, Jawa Tengah. *Journal of maquares* 6: 384-392
- Subagiyo, Muhammad SRD, Wilis AS. 2017. Potensi ekosistem mangrove sebagai sumber bakteri untuk produksi protease, amilase dan selulase. *Jurnal Kelautan Tropis* 20:106-111.
- Sugiyono. 2011. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&D*. Bandung: CV Afabeta
- Suriawiria U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Angkasa.
- Tarigan NP, Frida P, Boedi H. 2017. Kelayakan wisata alam di Maroon Mangrove Edupark Semarang. *Journal of maquares* 6:274-282.
- The EMBL Outstation, The European Bioinformatics Institute. 2007. The universal protein resource (UniProt). *Nucleic Acids Research* 38: D190-D195
- Tjandra E, Yosua R. 2011. *Mengenal hutan mangrove*. Bogor: Pakar Media Lini Produksi.
- Tutik W, Made A. 2004. Deteksi secara imunohistokimia antioksidan Superoxide Dismutase (SOD) pada jaringan tikus hiperkolesterolemia [penelitian dasar]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wibawa DAA. 2008. DNA polimerase dari bakteri hipertermofilik hasil isolasi dari kawah Sikidang Dieng, Jawa Tengah [Tesis]. Yogyakarta: Sekolah Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasi dalam Kesehatan*. Kanisius: Yogyakarta
- Yahya, Happy N, Yenny R, Soemarno. 2014. Karakteristik bakteri di perairan mangrove pesisir kraton Pasuruan. *Ilmu kelautan* 19: 35-42.
- Yakin A. 2013. Keanekaragaman tumbuhan mangrove di pantai selatan kabupaten sampang madura [skripsi]. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri.
- Yulma *et al.* 2017. Identifikasi bakteri pada serasah daun mangrove yang terdekomposisi di Kawasan Konservasi Mangrove dan Bekantan (KKMB) Kota Tarakan. *Journal of tropical biodiversity and biotechnology* 2: 28-33.

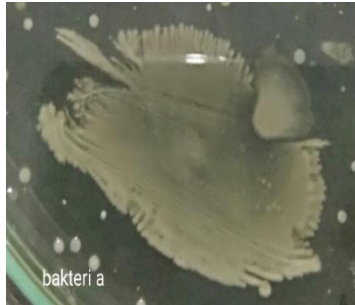
**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Sampel tanah hutan mangrove maron edupark semarang**Lampiran 2. Suspensi****Lampiran 3. Hasil isolasi bakteri**

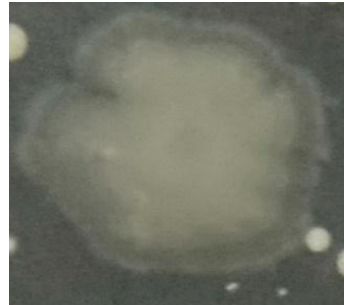
Pengenceran 10^{-1} Pengenceran 10^{-2} Pengenceran 10^{-3}

Lampiran 4. Hasil identifikasi bakteri

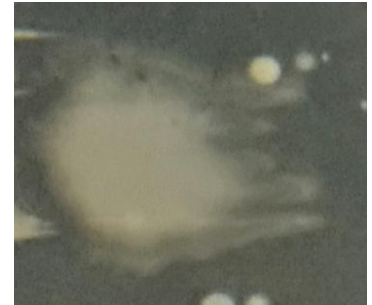
a. Makroskopis



Koloni 1



koloni 2



koloni 3

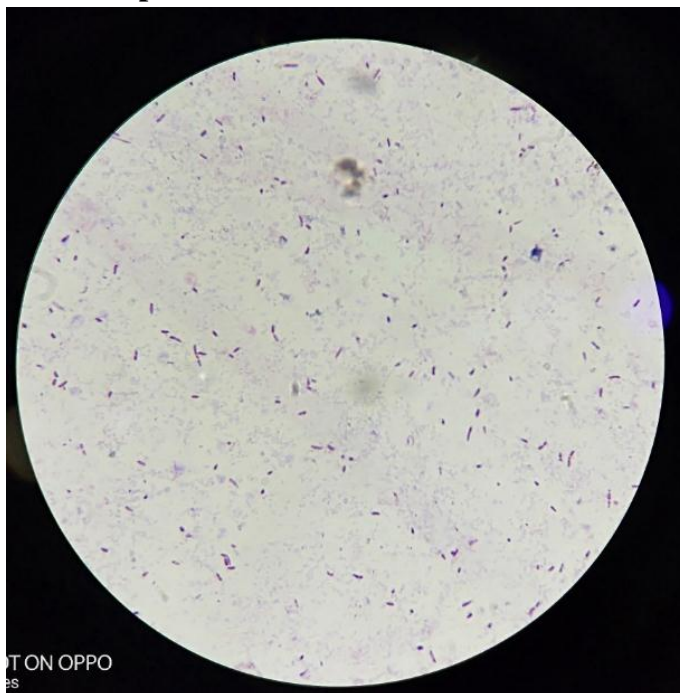


Koloni 4

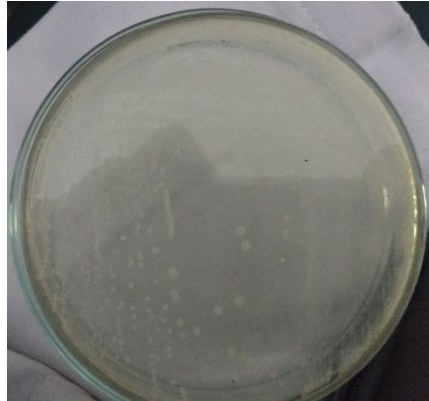


koloni 5

b. Mikroskopis isolat THM1

**Pengecatan Gram**

Lampiran 5. Isolat bakteri yang dikirim ke macrogen



Lampiran 6. Hasil identifikasi molekuler dengan 16S rDNA

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : 190527FN-021

Sample name : 1T_contig_1

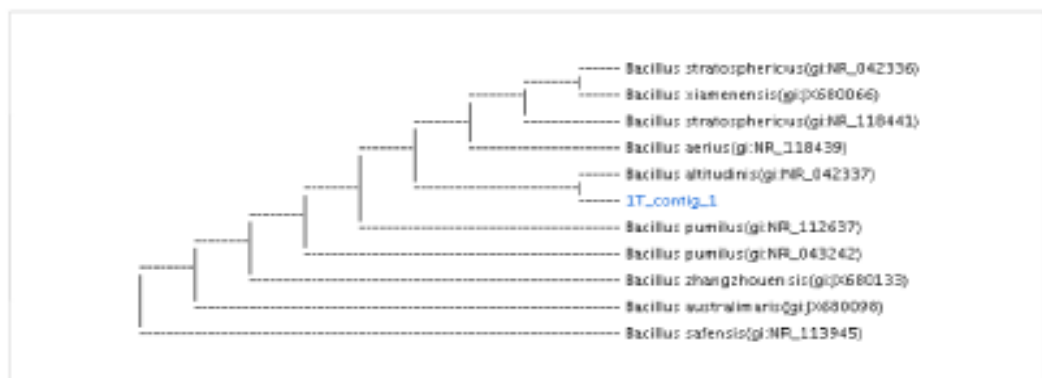
Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
NR_042337.1	<i>Bacillus altitudinis</i>	1506	26	1506	98	2713	0.0	1478/1482	99

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus altitudinis</i>



Lampiran 7. Karakter bakteri *Bacillus altitudinis*

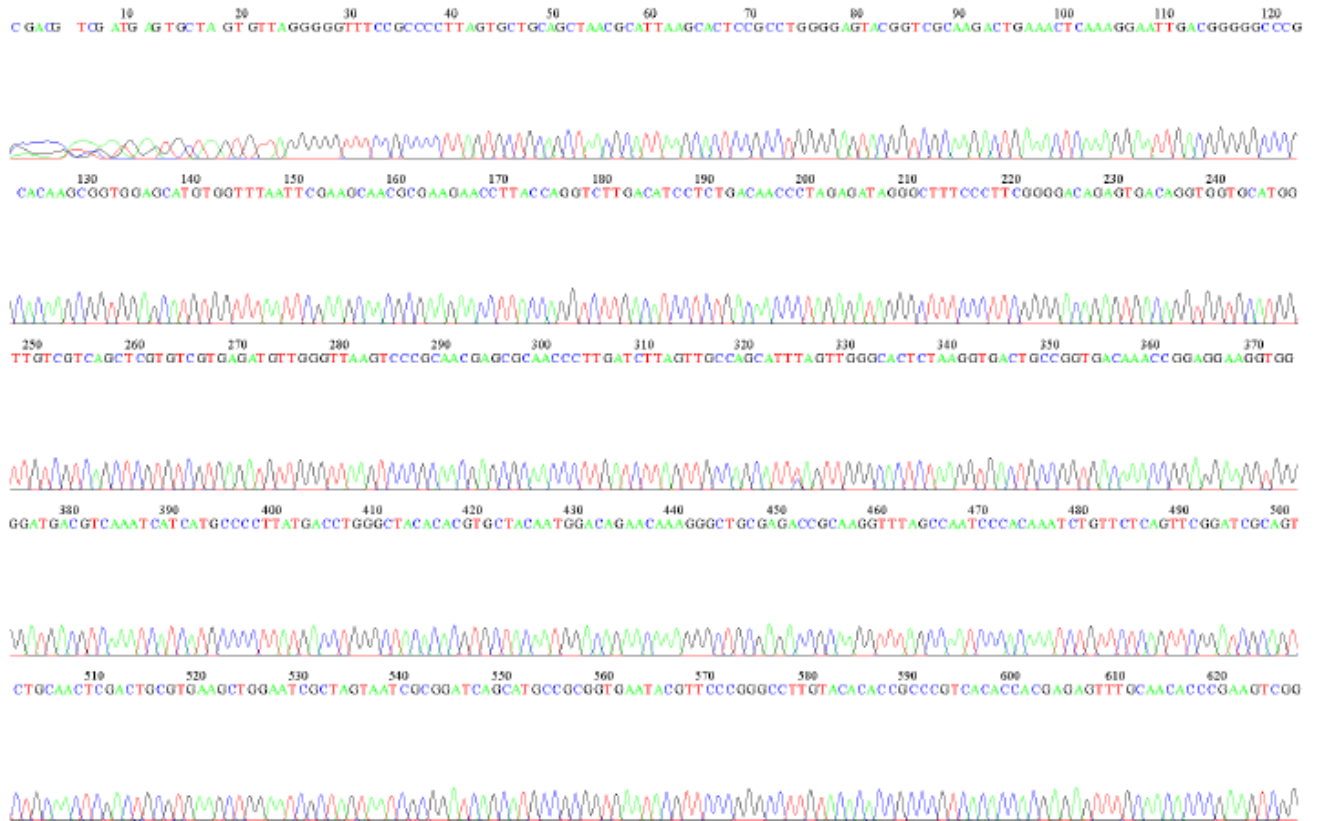
Characterization	
<p>Bacilli cause an array of infections from ear infections to meningitis, and urinary tract infections to septicemia. Mostly they occur as secondary infections in immunodeficient hosts or otherwise compromised hosts. They may exacerbate previous infection by producing tissue-damaging toxins or metabolites that interfere with treatment.</p>	
<p><i>Bacillus altitudinis</i> is a species of bacteria first isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes, hence its name. Its type strain is 41KF2bT (=MTCC 7306T =JCM 13350T).</p>	

Lampiran 8. Bakteri yang memiliki sekuen homolog dengan sekuen nukleotida 16S rDNA isolat THM1

1	Query				Subject						Score		Identities			Strand	
2	Name	Length	Start	End	Description	Link	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	E-value	Match	Total	Pct(%)	
3	1T_contig	1483	1	1482	Bacillus altitudinis strain 4	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/NC_042331.1		1506	26	1506	2713	1469	00.00	1478	1482	99	Plus/Plus
4	1T_contig	1483	1	1483	Bacillus xiamenensis strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/JX680066.1		1513	20	1504	2708	1466	00.00	1479	1485	99	Plus/Plus
5	1T_contig	1483	1	1483	Bacillus stratosphericus strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/NC_042331.1		1531	19	1504	2708	1466	00.00	1480	1486	99	Plus/Plus
6	1T_contig	1483	23	1480	Bacillus stratosphericus strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/NC_118441.1		1463	2	1460	2687	1455	00.00	1458	1459	99	Plus/Plus
7	1T_contig	1483	1	1483	Bacillus zhangzhouensis strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/JX680133.1		1513	20	1504	2686	1454	00.00	1475	1485	99	Plus/Plus
8	1T_contig	1483	2	1475	Bacillus pumilus strain NB	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/NC_112631.1		1474	1	1474	2684	1453	00.00	1467	1474	99	Plus/Plus
9	1T_contig	1483	20	1480	Bacillus aerius strain 24K 1	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/NC_118431.1		1466	2	1463	2682	1452	00.00	1459	1462	99	Plus/Plus
10	1T_contig	1483	1	1483	Bacillus australimaris strain	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/JX680098.1		1513	20	1504	2680	1451	00.00	1474	1485	99	Plus/Plus
11	1T_contig	1483	2	1475	Bacillus safensis strain NB	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/NC_113941.1		1474	1	1474	2673	1447	00.00	1465	1474	99	Plus/Plus
12	1T_contig	1483	30	1464	Bacillus pumilus strain AT	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/NC_043241.1		1434	1	1434	2615	1416	00.00	1429	1435	99	Plus/Plus

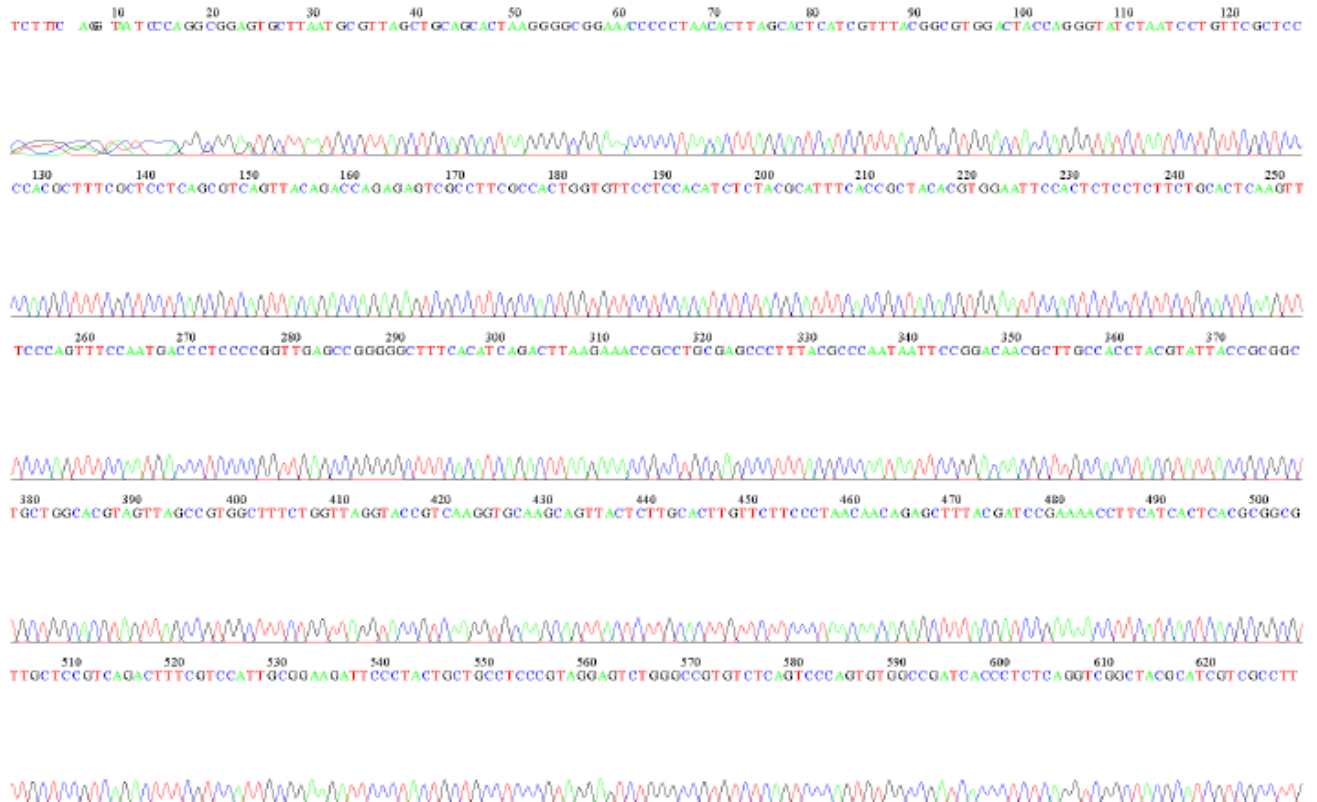
Lampiran 9. Sampel THM1 dengan primer forward

File: 1T_785F.ab1 Run Ended: 2019/5/31 2:26:42 Signal G:4429 A:4352 C:6156 T:4247
 Sample: 1T_785F Lane: 43 Base spacing: 15.990026 1543 bases in 18262 scans Page 1 of 2




Lampiran 10. Sampel THM1 dengan primer reverse

File: 1T_907R.ab1 Run Ended: 2019/5/31 2:26:42 Signal G:1713 A:1626 C:3484 T:2514
 Sample: 1T_907R Lane: 41 Base spacing: 17.220797 1152 bases in 13679 scans Page 1 of 2



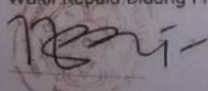
Lampiran 11. Hasil uji aktivitas SOD di Universitas Gadjah Mada


UNIVERSITAS GADJAH MADA
PUSAT STUDI PANGAN DAN GIZI
 Alamat: Gedung PAU-UGM, Jalan Teknika Utara, Berek, Yogyakarta 55281, Phone/Fax. (0274) 589242
 http://cfns.ugm.ac.id, E-mail: cfns@ugm.ac.id

LAPORAN HASIL UJI
(Analysys Certificate)
 No.PSPG/074/IV/2019

Nomor Pengujian : PS/042/IV/2019
(Analysis Report Number)
Nama Pelanggan : Lestari Wulandari
(Name of client)
Alamat Pelanggan :
(Address of client)
No. Telepon Pelanggan :
(Phone No. of client)
Contoh Uji : Supernatan Bakteri
(Type of sample)
Tanggal Penerimaan Contoh Uji : April 2019
Tanggal Pengujian : April 2019
(Date of analysis)
Metode Uji :
(Analysis Method)
Hasil Uji : SOD
(Analysis Result)

Hasil uji terlampir

Yogyakarta, 2 April 2019
 Wakil Kepala Bidang Program PSPG – UGM

 Prof. Dr. Ir. Nurliyani, MS
 NIP. 196008171986032003

Lampiran 12. Hasil persen inhibisi SOD


No	Kode	SOD %
1	1d	56,86
2	2d	49,02
3	3d	66,67
4	4d	80,39
5	5d	45,10
6	1T	74,51
7	2T	58,82
8	3T	50,98
9	4T	45,10
10	5T	62,75
11	B3	15,69
12	B6	25,49
13	A3	5,88
14	A6	9,80



Lampiran 13. Hasil absorbansi uji aktivitas SOD

USB		21-Mar-19	
No	Kode	Abx	SOD %
1	1d	0,054	56,86
2	2d	0,058	49,02
3	3d	0,049	66,67
4	4d	0,042	80,39 ✓
5	5d	0,060	45,10
6	1T	0,045	74,51 ✓
7	2T	0,053	58,82
8	3T	0,057	50,98
9	4T	0,060	45,10
10	5T	0,051	62,75
11	B3	0,075	15,69
12	B6	0,070	25,49
13	A3	0,080	5,88
14	A6	0,078	9,80
		1	0,149
		2	0,032
		3	0,098

Lampiran 14. Contoh prosedur sekuensing dari macrogen



16S rDNA region Sequencing Analysis

PCR machine: DNA Engine Tetrad 2 Peltier Thermal Cycler (BIO-RAD)
 PCR product purification: multiscreen filter plate (Millipore Corp.)
 Sequencing Kit : BigDye(R) Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)
 Sequencer: ABI PRISM 3730XL Analyzer (96 capillary type)

Information

Primer Information

PCR Primer Name Primer Sequences
 27F 5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
 1492R 5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Sequencing Primer Name Primer Sequences
 78SF 5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'
 907R 5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'

Method

The primers 27F 5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3' and 1492R 5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3' were used for the PCR. The PCR reaction was performed with 20 ng of genomic DNA as the template in a 30 μ l reaction mixture by using a *EF-Taq*(SolGent, Korea) as follows: activation of Taq polymerase at 95 °C for 2minutes, 35 cycles of 95 °C for 1minutes, 55°C, and 72 °C for 1minutes each were performed, finishing with a 10-minute step at 72 °C. The amplification products were purified with a multiscreen filter plate (Millipore Corp., Bedford, MA, USA). Sequencing reaction was performed using a PRISM BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit. The DNA samples containing the extension products were added to Hi-Di formamide (Applied Biosystems, Foster City, CA). The mixture was incubated at 95 °C for 5 min, followed by 5 min on ice and then analyzed by ABI Prism 3730XL DNA analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Lampiran 15. Alat yang digunakan untuk praktikum**Vortex****Inkas****Inkubator****Oven****Kompore****Autoclav**



Jarum Ose dan Ent



Lampu spiritus



Mikropipet



Gelas ukur



Gelas beaker



Mikroskop binokuler



Alat sentrifugasi



Sonikator



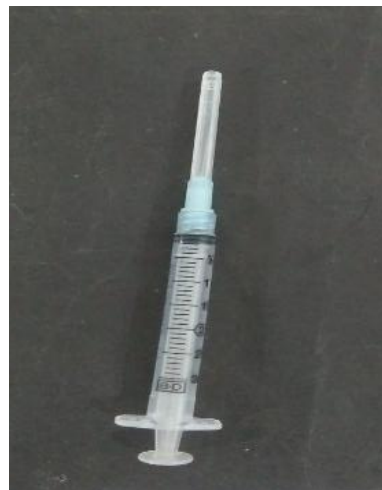
Pipet volume



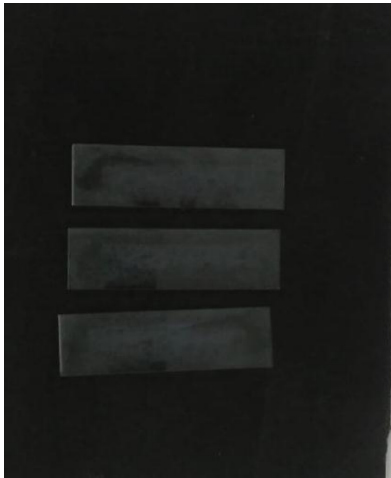
Kapas lidi



Batang pengaduk



Sprit 1 ml



Objek glass



Mikrot tip



Timbangan



Timbangan analitik



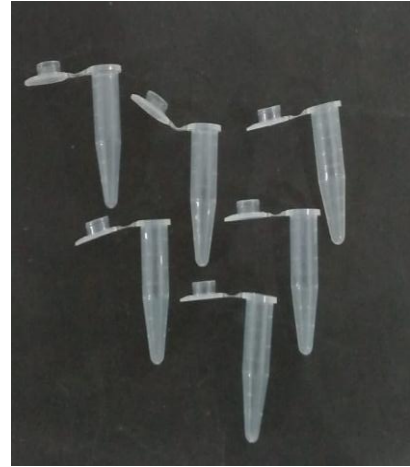
Ice box



gel ice



Rak tabung reaksi



Mikrotube



Cawan petri disposable

Lampiran 16. Perhitungan persen SOD

Keterangan : A = Absorbansi

$$\text{Blank 1} = 0,149$$

$$\text{Blank 2} = 0,032$$

$$\text{Blank 3} = 0,098$$

$$\text{Rumus : \% SOD} : \frac{(\text{A blank 1} - \text{A blank 3}) - (\text{A sampel} - \text{A blank 2})}{\text{A blank 1} - \text{A blank 3}} \times 100\%$$

$$1. \text{ Isolat THM1} : \frac{(0,149 - 0,098) - (0,045 - 0,032)}{0,149 - 0,098} \times 100\%$$

$$: 74,51$$

$$2. \text{ Isolat THM2} : \frac{(0,149 - 0,098) - (0,053 - 0,032)}{0,149 - 0,098} \times 100\%$$

$$: 58,82$$

$$3. \text{ Isolat THM3} : \frac{(0,149 - 0,098) - (0,057 - 0,032)}{0,149 - 0,098} \times 100\%$$

$$: 50,98$$

$$4. \text{ Isolat THM4} : \frac{(0,149 - 0,098) - (0,060 - 0,032)}{0,149 - 0,098} \times 100\%$$

$$: 45,10$$

$$5. \text{ Isolat THM5} : \frac{(0,149 - 0,098) - (0,051 - 0,032)}{0,149 - 0,098} \times 100\%$$

$$: 62,75$$

Lampiran 17. Komposisi dan pembuatan media

1. *Brain Heart Infusion* (BHI)

Komposisi :	Sari otak anak sapi	12	gram
	Sari jantung sapi	5	gram
	Proteose pepton	10	gram
	Bacto dextrose	2	gram
	NaCl	5	gram
	Dinatrium fosfor	2,5	gram
	Bacto agar	15	gram
	Aquadestilata	ad 1 L pH = 7,4	

Cara Pembuatan

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadestillata sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri (Bridson 1998).

2. Nutrient Agar (NA)

Komposisi :	Beef extract	3 g
	Pepton	5 g
	Agar	15 g
	Akuades	ad 1000 ml

Cara Pembuatan

Akuades sebanyak 100 ml dibagi menjadi dua, satu bagian untuk melarutkan *Beef extract* dan peptone dan sebagian lagi untuk melarutkan agar. Agar dilarutkan pada sebagian air kemudian diaduk. Akuades sebagian digunakan untuk melarutkan pepton dan *beef extract*. Bahan yang sudah larut dituangkan ke larutan agar dan diaduk sampai homogen, kemudian dilakukan pengukuran pH media dengan mencelupkan kertas pH indikator. pH yang belum netral dapat ditambahkan HCl/NaOH sampai netral. Media yang larut dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer dan

disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media steril dituangkan ke cawan petri steril secara aseptis.