



Pengaruh Pemanasan Berulang Media *Nutrient Agar* terhadap Hasil Uji ALT Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Elisa Rinihapsari

Prodi D3 Analisis Kesehatan Politeknik Katolik Mangunwijaya

Benaya Yamin Onesiforus

Prodi D3 Analisis Kesehatan Politeknik Katolik Mangunwijaya

Salsa Aten Riya

Prodi D3 Analisis Kesehatan Politeknik Katolik Mangunwijaya

Alamat: Jl. Mayjen Sutoyo no. 69 Semarang

Korespondensi penulis: elisarinihapsari@gmail.com

Abstract. *Nutrient Agar* is a universal medium containing agar, meat extract, yeast extract and peptone. NA media is often made in large quantities, stored under sterile conditions, and then reheated when needed. Repeated heating can reduce the number of bacterial colonies that grow because the components that make up the media become damaged. This study aimed to determine the effect of repeated heating of NA (*Nutrient Agar*) media 4 times on the Total Plate Count (TPC) test results for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The number of bacteria that grew on the media with varying amounts of heating was calculated, and the results showed that repeated heating 4 times caused a decrease in the number of bacterial colonies that grew on the NA media. The ANOVA test gave a value of $p = 0.000$ for the two types of bacteria separately, which showed that there is a significant difference between the number of bacteria in varying amounts of media heating. This research concluded that repeated heating of NA (*Nutrient Agar*) media affects the TPC test results for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keywords: *Nutrient Agar*, repeated heating, Total Plate Count, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Abstrak. Media NA (*Nutrient Agar*) adalah media universal yang mengandung agar, ekstrak daging, ekstrak ragi, dan pepton. Media NA seringkali dibuat dalam jumlah banyak, disimpan dalam kondisi steril, dan kemudian dipanaskan kembali ketika dibutuhkan. Pemanasan berulang dapat menurunkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh karena komponen penyusun mediamenjadi rusak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemanasan berulang media NA (*Nutrient Agar*) sebanyak 4x terhadap hasil uji ALT bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jumlah bakteri yang tumbuh pada media dengan variasi jumlah pemanasan dihitung, dan menunjukkan hasil bahwa pemanasan berulang sebanyak 4 kali menyebabkan penurunan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media NA. Uji One Way ANOVA memberikan hasil nilai $p=0,000$ untuk kedua jenis bakteri secara terpisah, yang menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara jumlah bakteri pada variasi jumlah pemanasan media. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu pemanasan berulang pada media NA (*Nutrient Agar*) mempengaruhi hasil uji ALT bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata kunci: *Nutrient Agar*, pemanasan berulang, Angka Lempeng Total, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

LATAR BELAKANG

Menurut Yusmaniar dkk (2017), media NA (*Nutrient Agar*) merupakan media padat yang mengandung komposisi agar sebesar 1,5% atau 15 gram. Nutrisi lain yang terkandung dalam media NA antara lain pepton 0,5%, *sodium chloride* 0,5%, *lab-lemco' powder* 0,1%, dan *yeast extract* 0,2 % (Rossita, 2017).

Media *Nutrient Agar* (NA) yang akan digunakan untuk pemeriksaan bakteriologis disimpan dalam kulkas, kemudian dipanaskan kembali saat akan digunakan. Proses pemanasan

dapat merusak beberapa komponen atau nutrisi dalam media, serta menghasilkan produk toksin yang terbentuk akibat pemanasan. Pemanasan media pertumbuhan bakteri yang mengandung nutrisi kompleks seperti peptida, gula, neral, dan logam akan menyebabkan destruksi atau kerusakan nutrisi (Suprapti, 2020).

Menurut Wati (2018), dampak pemanasan yaitu terdapat padaperubahan komposisi media NA berupa penguraian kandungan yang mendukung pertumbuhan bakteri seperti vitamin, asam amino, dan asam lemak, serta merubah pH. Cara mencegah agar tidak terjadi hal – hal tersebut, proses pemanasan tidak boleh dilakukan di atas 3 kali. Pemanasan media di atas 3 kali tidak direkomendasikan untuk dipakai kembali, karena kandungan komposisi seperti protein, ekstrak daging, dan ekstrak ragi pada media sudah rusak sehingga mikroba yang tumbuh tidak optimal (Hafsan, 2014).

KAJIAN TEORITIS

Media sangat penting peranannya dalam bidang mikrobiologi yaitu untuk isolasi, perhitungan jumlah mikroba, dan pengujian sifat – sifat fisik bakteri sehingga bakteri tersebut dapat teridentifikasi. Nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme biasanya merupakan senyawa sederhana yang didapat dari reaksi pemecahan atau sudah tersedia secara langsung (Wachidah, 2016).

Media NA (*Nutrient Agar*) berbentuk serbuk berwarna putih kekuningan (Thohari, 2019). *Nutrient Agar* adalah suatu media yang berbentuk padat, merupakan perpaduan antara bahan alamiah dan senyawa-senyawa kimia. Menurut Rossita (2017), berdasarkan kegunaannya media NA (*Nutrient Agar*) termasuk ke dalam jenis media universal, karena media ini merupakan media yang paling umum digunakan untuk pertumbuhan sebagian besar bakteri. Berdasarkan bentuknya media ini berbentuk padat, karena mengandung agar sebagai bahan pematatnya. Media padat biasanya digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni bakteri (Munandar, 2016). Media NA terbuat dari campuran ekstrak daging dan pepton dengan menggunakan agar sebagai pematat. Dalam hal ini ekstrak daging dan pepton digunakan sebagai bahan dasar karena merupakan sumber protein, nitrogen, vitamin serta karbohidrat yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang, sedangkan agar digunakan sebagai pematat karena sifatnya mudah membeku dan mengandung karbohidrat yang berupa galaktam sehingga tidak mudah diuraikan oleh mikroorganisme (Fatmazira, 2017).

Pemanasan media berulang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba yaitu menjadi tidak optimal. Hal ini terjadi karena pemanasan dapat berdampak pada perubahan komposisi media berupa penguraian kandungan nutrisi yang mendukung pertumbuhan bakteri seperti vitamin, asam amino, dan asam lemak, serta merubah pH. Pencegahan kerusakan media karena pemanasan adalah dengan proses sterilisasi media yang cukup dilakukan satu kali. Media pertumbuhan bakteri disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 116 -118 °C untuk mencegah dekomposisi atau penguraian karbohidrat yang berupa gula dan pembentukan formasi senyawa toksik yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Hafsan, 2014).

Metode Angka Lempeng Total (ALT) merupakan metode yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroba yang terdapat dalam satu sampel atau sediaan, metode ini biasanya juga disebut dengan metode TPC (*Total Plate Count*). ALT memberikan gambaran tentang kualitas dan higiene suatu bahan secara keseluruhan, akan tetapi metode ini memiliki kemampuan yang terbatas dalam mengidentifikasi sumber kontaminasi bakteri. Pengujian Angka Lempeng Total dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar.

Prinsip dari ALT yaitu menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada medium, kemudian mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung, kemudian dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Nunik, 2012). Menurut Maulidah (2021), ALT memiliki beberapa keunggulan yaitu untuk menghitung semua jumlah sel yang ada pada cawan, sel yang hidup serta jenis mikroba lain yang ada didalamnya, karna koloni yang terbentuk berasal dari satu sel maka koloni tersebut juga dapat digunakan sebagai isolasi mikroba.

Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada lempeng agar dihitung setelah inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai. Perhitungan dilakukan terhadap petri dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300. Angka lempeng total dinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri hasil perhitungan dikalikan faktor pengenceran. Keuntungan dari metode pertumbuhan agar atau metode uji Angka Lempeng Total adalah dapat mengetahui jumlah mikroba yang dominan. Keuntungan lainnya dapat diketahui adanya mikroba jenis lain yang terdapat dalam sampel (Sundari, 2019).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) yang dipanaskan berulang kemudian diamati pengaruhnya terhadap hasil uji ALT bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Medis Prodi Analis Kesehatan Politeknik Katolik Mangunwijaya.

Alat yang digunakan adalah: neraca analitik, autoklaf, erlenmeyer, gelas ukur, pipet ukur, cawan petri, tabung reaksi, *hot plate*, lemari pendingin, lampu, spiritus, ose, *hockey stick*. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu: media *Nutrient Agar*, NaCl 0,85%, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25923, akuades steril.

Penelitian diawali dengan sterilisasi semua alat dan bahan, terutama media NA. Media NA yang telah steril diberi variasi perlakuan, yaitu: tanpa pemanasan, pemanasan 1x, 2x, 3x, dan 4x. Media NA tanpa pemanasan adalah media NA yang baru dibuat. Media tersebut langsung dituang ke dalam cawan petri sesuai kebutuhan, sisa dalam erlenmeyer disimpan di kulkas. Media dengan pemanasan 1x adalah sisa media tanpa pemanasan dari kulkas, dipanaskan kembali pada suhu 75°C selama 15 menit, dituang ke cawan petri sesuai kebutuhan, sisanya dalam erlenmeyer disimpan di kulkas. Media dengan pemanasan 2x adalah sisa media dari pemanasan 1x dipanaskan kembali pada suhu 75°C selama 15 menit, dituang ke cawan petri sesuai kebutuhan, sisa dalam erlenmeyer disimpan di kulkas. Media dengan pemanasan 3x adalah sisa media pemanasan 2x dipanaskan kembali pada suhu 75°C selama 15 menit, lalu dituang ke cawan petri sesuai kebutuhan, sisa dalam erlenmeyer disimpan di kulkas. Media dengan pemanasan 4x adalah sisa media pemanasan 3x dipanaskan kembali pada suhu 75°C selama 15 menit, kemudian dituang ke cawan petri sesuai kebutuhan.

Pengujian ALT dilakukan dengan metode rata-rata (*spread plate*) pada media NA menggunakan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 yang memiliki kekeruhan setara dengan standar Mc Farland 0,5. Kekeruhan suspensi bakteri ditentukan melalui penelitian pendahuluan, yang memungkinkan masuk dalam rentang pengujian dengan pengenceran 10^{-9} hingga 10^{-12} . Suspensi bakteri diencerkan menggunakan larutan NaCl 0,9%. Suspensi bakteri dari masing-masing pengenceran dipipet sebanyak 0,1 mL ke dalam cawan petri, kemudian diratakan di permukaan media dengan menggunakan *hockey stick* yang telah disterilkan. Cawan petri berisi media dan suspensi bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Penentuan jumlah ALT dilakukan mengikuti persyaratan yang berlaku, yaitu menggunakan jumlah koloni dari cawan petri yang ditumbuhi bakteri dengan koloni antara 30-300. Angka Lempeng Total ditentukan (CFU/mL) menggunakan rumus sebagai berikut:

$$ALT = (A-B) \times \frac{1}{C} \times \frac{1}{D}$$

Keterangan:

A = jumlah koloni yang memenuhi syarat

B = jumlah koloni pada blanko

C = volume pengenceran yang ditanam

D = faktor pengenceran

Hasil ALT yang diperoleh dari pengamatan setelah inkubasi dianalisis secara statistik dengan uji beda untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah bakteri yang ditanam dari media NA dengan variasi jumlah pemanasan media.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil uji ALT yang dilakukan pada media NA dengan variasi jumlah pemanasan berulang. Penghitungan ALT dilakukan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* secara terpisah. Pengamatan dilakukan pada 5 replikasi ALT. Media tanpa pemanasan digunakan sebagai kontrol pembanding. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel-tabel berikut ini.

Tabel 1. Hasil uji ALT bakteri *Staphylococcus aureus* pada variasi pemanasan media (CFU/mL)

Replikasi	Tanpa pemanasan	Jumlah pemanasan			
		1x	2 x	3x	4x
1	$1,7 \times 10^{12}$	$1,3 \times 10^{12}$	$8,1 \times 10^{11}$	$6,6 \times 10^{11}$	$3,5 \times 10^{11}$
2	$1,8 \times 10^{12}$	$1,3 \times 10^{12}$	$1,1 \times 10^{12}$	$6,3 \times 10^{11}$	$2,9 \times 10^{11}$
3	$1,8 \times 10^{12}$	$1,5 \times 10^{12}$	$9,6 \times 10^{11}$	$4,6 \times 10^{11}$	$4,0 \times 10^{11}$
4	$1,7 \times 10^{12}$	$1,4 \times 10^{12}$	$1,0 \times 10^{12}$	$4,8 \times 10^{11}$	$2,2 \times 10^{11}$
5	$1,7 \times 10^{12}$	$1,5 \times 10^{12}$	$9,0 \times 10^{11}$	$5,9 \times 10^{11}$	$2,7 \times 10^{11}$
Rerata					
	$1,7 \times 10^{12}$	$1,4 \times 10^{12}$	$9,6 \times 10^{11}$	$5,6 \times 10^{11}$	$3,1 \times 10^{11}$

Tabel 2. Hasil uji ALT bakteri *Escherichia coli* pada variasi pemanasan media (CFU/mL)

Replikasi	Tanpa pemanasan	Jumlah pemanasan			
		1x	2 x	3x	4x
1	$1,6 \times 10^{12}$	$1,1 \times 10^{12}$	$9,9 \times 10^{11}$	$8,6 \times 10^{11}$	$3,7 \times 10^{11}$
2	$1,6 \times 10^{12}$	$1,3 \times 10^{12}$	$1,0 \times 10^{12}$	$7,8 \times 10^{11}$	$2,5 \times 10^{11}$
3	$1,5 \times 10^{12}$	$1,4 \times 10^{12}$	$9,4 \times 10^{11}$	$8,9 \times 10^{11}$	$5,0 \times 10^{11}$
4	$1,7 \times 10^{12}$	$1,4 \times 10^{12}$	$9,4 \times 10^{11}$	$8,3 \times 10^{11}$	$4,6 \times 10^{11}$
5	$1,5 \times 10^{12}$	$1,5 \times 10^{12}$	$9,9 \times 10^{11}$	$5,7 \times 10^{11}$	$5,0 \times 10^{11}$

Rerata				
1,6 x 10 ¹²	1,4 x 10 ¹²	9,8 x 10 ¹¹	7,9 x 10 ¹¹	4,2 x 10 ¹¹

Tabel 1 dan 2 menunjukkan bahwa jumlah bakteri paling sedikit ditemukan pada perlakuan 4x pemanasan dengan rerata jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 3,1 x 10¹¹ CFU/mL, sedangkan bakteri *Escherichia coli* sebanyak 4,2 x 10¹¹ CFU/mL. Hasil ini menunjukkan kecenderungan semakin sering dilakukan pemanasan media NA, maka jumlah bakteri semakin menurun. Pemanasan media NA yang dilakukan secara berulang dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba tidak optimal.

Jumlah koloni bakteri pada media NA yang lebih sering dipanaskan menjadi lebih sedikit diduga karena pemanasan dapat merusak kandungan nutrisi yang ada di dalam media, terutama menyebabkan denaturasi protein yang terdapat di dalam media (Angraeni dkk, 2021). Pertumbuhan dan perkembangan bakteri secara sintetik di laboratorium memerlukan jenis lingkungan yang tepat untuk menggantikan kondisi alamiah, sehingga diperlukan kondisi tertentu untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri yang tepat. Untuk itulah diperlukan persyaratan bahwa media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri, mempunyai tekanan osmosis, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan bakteri, dan harus dalam keadaan steril. Media dalam mikrobiologi adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara (*nutrient*) yang berguna untuk membiakkan mikroorganisme. Pemanfaatan bermacam-macam media dapat digunakan untuk melakukan isolasi, perbanyakan, pengujian sifat-sifat fisiologis dan perhitungan jumlah bakteri.

Hasil ALT yang diperoleh dalam penelitian ini perlu dilakukan uji statistik untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil ALT antar perlakuan secara signifikan. Data hasil ALT untuk bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* terdistribusi normal, sehingga dilakukan uji One Way ANOVA. Hasil analisis One Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi 0,00 untuk kedua jenis bakteri, sehingga dilanjutkan dengan uji pascaanova.

Tabel 3. Hasil uji statistik

Jenis bakteri	Uji One Way ANOVA	Uji pascaanova	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,000 (terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan)	A vs B	0,041*
		A vs C	0,000*
		A vs D	0,000*
		A vs E	0,000*
		B vs C	0,000*
		B vs D	0,000*
		B vs E	0,000*
		C vs D	0,111
		C vs E	0,000*
D vs E	0,000*		

<i>Escherichia coli</i>	0,000 (terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan)	A vs B	0,041*
		A vs C	0,000*
		A vs D	0,000*
		A vs E	0,000*
		B vs C	0,000*
		B vs D	0,000*
		B vs E	0,000*
		C vs D	0,111
		C vs E	0,000*
		D vs E	0,002*

Keterangan:

A: tanpa pemanasan

B: pemanasan 1x

C: pemanasan 2x

D: pemanasan 3x

E: pemanasan 4x

* terdapat perbedaan yang bermakna

Berdasarkan tabel 3, dapat disimpulkan bahwa pemanasan berulang media *Nutrient Agar* menyebabkan perbedaan hasil uji ALT untuk bakteri *Staphylococcus aureus* maupun bakteri *Escherichia coli* secara signifikan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wati dkk (2018) dan Angraeni dkk (2021) tentang pengaruh pemanasan berulang media PCA terhadap hasil uji ALT, bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan yaitu ditandai dengan penurunan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media PCA tiap ulangan pemanasan. Jumlah koloni bakteri semakin berkurang karena nutrisi pada media mengalami penurunan.

Menurut Rossita (2017) nutrisi yang terkandung dalam media NA antara lain pepton 0,5%, agar 1,5%, *sodium chloride* 0,5%, *lab-lemco' powder* 0,1%, dan *yeast extract* 0,2 %. Pepton merupakan salah satu bentuk protein, yang mengalami denaturasi akibat pemanasan. Denaturasi menyebabkan perubahan sifat – sifat dan struktur asam amino dan menurunkan kandungan air sehingga kandungan nutrisi di dalam media menjadi rusak. Proses pemanasan berulang juga akan merusak kandungan gula di dalam media. Hal ini juga sejalan dengan penelitian Soebari dkk (2019), bahwa penurunan nutrisi disebabkan oleh pemanasan yang mengakibatkan media kehilangan zat gizi seperti protein, mineral, vitamin, dan gula, dan komponen-komponen lain yang larut dalam air. Komponen-komponen tersebut akan hilang sehingga menyebabkan kerusakan dan menimbulkan toksin di dalam media. *Sodium chloride* atau NaCl adalah garam. Menurut Samsi (2022) pemanasan dapat menurunkan kualitas garam sehingga kualitas *sodium chloride* dalam di dalam media NA juga menjadi turun atau rusak.

Lab- lemco' powder adalah bubuk dadi ekstra daging, pemanasan dapat menyebabkan berkurangnya nilai gizi dan vitamin dalam ekstra daging tersebut (Sundari dkk, 2015).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemanasan berulang media NA (*Nutrient Agar*) mempengaruhi hasil uji ALT bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pemanasan berulang sebanyak 4 kali menyebabkan penurunan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media NA. Dengan demikian dapat disarankan pemanasan media tidak boleh lebih dari 2x untuk mendapatkan hasil uji yang optimal.

DAFTAR REFERENSI

- Angraeni PD., Marhamah, Djayasinga R. (2021). Pengaruh Pemanasan Berulang Terhadap Kualitas Media Plate Count Agar (PCA) di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analisis Kesehatan. *Jurnal Medika Malahayati*. 6 (4). 220-226. <https://doi.org/10.33024/jmm.v5i4.5936>
- Hafsan (2014). *Mikrobiologi Analitik*. Makassar: Alauddin University Press.
- Maulidah, N., Wahidah, F.F. (2021). Metode Perbanyak Azotobacter Sp. Dengan Media Cair Di Kantor Koordinator PTPH Bojonegoro. *Jurnal Matematika dan Sains*, 1 (2), 75-80.
- Munandar, K. (2016). *Pengenalan Laboratorium IPA-BIOLOGI Sekolah*. Bandung: Refika Aditama.
- Nunik, P, Junianto, dan Titin, H. (2012). Karakteristik Bakteri Caviar Nilem Dalam Perendaman Campuran Larutan Asam Asetat Dengan Larutan Garam Pada Penyimpanan Suhu Rendah (5-10°C). *Jurnal Perikanan dan Kelautan.*, 3(4) : 171-175.
- Rossita AS., Munandar K., dan Komarayanti S. (2017) Komparasi Media NA Pabrik dengan NA Modifikasi untuk Media Pertumbuhan Bakteri. *Prosiding Seminar Nasional Biologi, IPA dan Pembelajarannya I*. <http://jurnal.unmuhjember.ac.id/index.php/PB2017/article/view/955/765>
- Samsi, W.T.2022. Pengaruh Waktu Penyimpanan dan Pemanasan terhadap kadar Iodium dalam Garam Beriodium. *KNPP*, E-ISSN : 2798-2580.
- Soebari, E., Bahar, A., Gustiana, D., Hernawati, E., Hendriana, Farhan, I., et al. (2019). *Dasar-dasar Pengolahan Bahan Pangan*. Subang: Polsub Press
- Sundari, S., Fadhlani. (2019). Uji Angka Lempeng Total (ALT) pada Sediaan Kosmetik Lotion X di BBPOM Medan. *Jurnal Biologica*, 1 (1), 25-33.
- Suprpti, I., Heruwati, A., Sukesi, A.D.B. (2020). *Pedoman Pembuatan Media dan Reagensia Racik*. Slemana : Deepublish.
- Thohari, Novriana M., Pestariati, Istanto W. (2019). Pemanfaatan Tepung Kacang Hijau (*Vigna radiata L.*) sebagai Media Alternatif NA (*Nutrient Agar*) untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Analisis Kesehatan Sains*. 8 (2). 725-737. <http://journal.poltekkesdepkes-sby.ac.id/index.php...>

- Wachidah, Istianah (2016) Pemanfaatan Umbi Gadung Dan Umbi Uwi Sebagai Media Alternatif Substitusi Nutrient Agar (Na) Untuk Pertumbuhan Bakteri. Skripsi thesis, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Wati RY. (2018). Pengaruh Pemanasan Media PCA Berulang terhadap Uji TPC di Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Hasil Pertanian Unand. Jurnal Teknologi dan Manajemen Pengelolaan Laboratorium. 1(2). 44-47.
<https://doi.org/10.25077/temapela.1.2.44-47.2018>
- Yusmaniar, Wardiyah, Nida, K. 2017. Mikrobiologi dan Parasitologi. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia