

## 1. Penentuan Waktu Produksi Optimum Protein

1. Alat : aluminium foil, sendok tanduk, erlenmeyer (22 buah), penutup kasa (22 buah), air laut (2+ liter), plastik tahan panas, autoclave, kawat ose, latex, isopropanol 70%, spirtus, label, *shaker* inkubator, pipet mikro 10 mL/ gelas ukur 100 mL, botol vial (200 buah).
2. Bahan : isolat bakteri, media BHIB, media NB.
3. Prosedur :
  1. Buat media BHIB (4,625 g media BHIB + 125 mL air laut).
  2. Masukkan ke dalam erlenmeyer dan tutup menggunakan pensa, kemudian sterilkan di dalam autoklaf.
  3. Dimasukkan Isolat bakteri sebanyak 2-3 ose ke dalam erlenmeyer yang berisi media BHIB kemudian di *shaker* selama 12 jam (37°C dan 150 rpm).
  4. Diinokulasikan media yang telah dishaker ke dalam erlenmeyer yang berisi 125 mL media NB steril.
  5. Dishaker kembali selama  $\pm$  4 hari untuk mengetahui waktu produksi optimum protein (37°C dan 150 rpm)..
  6. Selanjutnya dilakukan sampling setiap 6 jam untuk mengukur optical density (OD) dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS untuk mengetahui kepadatan bakteri dan kadar proteinnya dengan menggunakan metode Lowry.

## 2. Produksi Protein dalam Jumlah Besar

1. Alat : aluminium foil, sendok tanduk, erlenmeyer (22 buah), penutup kasa (22 buah), air laut (2+ liter), plastik tahan panas, autoclave, kawat ose, latex, isopropanol 70%, spirtus, label, *shaker* inkubator, pipet mikro 10 mL/ gelas ukur 100 mL, botol vial (200 buah).
2. Bahan : isolat bakteri, media BHIB, media NB.
3. Prosedur :
  1. Buat media BHIB (4,625 g media BHIB + 125 mL air laut).
  2. Masukkan ke dalam erlenmeyer dan tutup menggunakan pensa, kemudian sterilkan di dalam autoklaf.
  3. Dimasukkan Isolat bakteri sebanyak 2-3 ose ke dalam erlenmeyer yang berisi media BHIB kemudian di *shaker* selama 12 jam (37°C dan 150 rpm).
  4. Diinokulasikan media yang telah dishaker ke dalam erlenmeyer yang berisi 125 mL media NB steril.
  5. Dishaker kembali selama  $\pm$  4 hari untuk mengetahui waktu produksi optimum protein (37°C dan 150 rpm)..
  6. Selanjutnya dilakukan sampling setiap 6 jam untuk mengukur optical density (OD) dengan menggunakan spektrofotometer UV-

VIS untuk mengetahui kepadatan bakteri dan kadar proteinnya dengan menggunakan metode Lowry.