

Lampiran 3

PEMBUATAN MEDIA

1. **LB I** (*Lactose Broth Single Strength*)

Komposisi :	Beef extract	0,3 gram
	Lactose	0,5 gram
	Pepton	0,5 gram
	Aguadest	100 ml

Cara Pembuatan :

- Melarutkan bahan – bahan tersebut dengan memanaskannya hingga larut sempurna, kemudian mengecek pH 7,0.
- Memasukkan sebanyak 10 ml ke dalam tabung yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik.
- Menutup tabung dengan kapas berlemak kemudian disterilkan di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. **LB III** (*Lactose Broth Single Strength*)

Komposisi :	Beef extract	0,9 gram
	Lactose	1,5 gram
	Pepton	1,5 gram
	Aguadest	100 ml

Cara Pembuatan :

- Melarutkan bahan – bahan tersebut dengan memanaskannya hingga larut sempurna, kemudian mengecek pH 7,0.
- Memasukkan sebanyak 10 ml ke dalam tabung yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik.
- Menutup tabung dengan kapas berlemak kemudian disterilkan di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. BGLB (*Brilliant Green Lactose Bile Broth*)

Komposisi : A	Pepton	10 gram
	Lactose	10 gram
	Aquadest	500 ml
B	Oxgall (dehydrate) / Typol	20 gram
	Aquadest	200 ml
C	Brilliant green 0,1%	13,3 ml

Cara pembuatan :

- Mencampurkan reagen A dan B, kemudian menambahkan aquadest sampai 975 ml. Lalu mengecek pH 7,4.
- Menambah reagen C Brilliant green 0,1% 13,3 ml, menambah aquadest sampai 1000 ml.
- Memasukkan sebanyak 10 ml ke dalam tabung yang telah berisi tabung Durham dengan posisi terbalik.
- Menutup tabung dengan kapas berlemak kemudian disterilkan di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

4. EMB (*Eosin Methylene Blue Agar*)

Komposisi :	Pepton	10 gram
	Lactosa	5 gram
	Sacharose	5 gram
	Dipotassium Phosphate	2 gram
	Agar	13,5 gram
	Eosin Yellow	0,4 gram
	Methylene blue	0,065 gram
	Aquadest	1000 ml

Cara pembuatan :

- Larutkan 36 gram dehydrate medium dalam 1000 ml aquadest dingin.
- Panaskan sampai mendidih, sehingga larut sempurna.
- Media di pH 7,2

- d. Disteril dalam autoclave 15 Lb selama 15 menit.
- e. Tuang pada petridish steril.
- f. Didinginkan.

5. TS I A (*Triple Sugar Iron Agar*)

Komposisi :	Meat extract	0,3 gram
	Yeast extract	0,3 gram
	Pepton from casein	0,15 gram
	Pepton from meat	0,5 gram
	Laktose	1 gram
	(D) ± Glukose	0,1 ml
	Saccharosa	1 gram
	Ammonium eisen (III) Citrat	0,05 gram
	Sodium Chlorida	0,5 gram
	Sodium Thio Sulfate	0,05 gram
	Phenol Red	0,0024 gram
	Agar	0,12 gram
	Dehydrate medium	5,5 gram
	Aquades	100 ml

Cara Pembuatan :

- a. Melarutkan bahan – bahan tersebut dengan memanaskannya hingga larut sempurna, kemudian mengecek pH ± 7,4
- b. Bila memakai dehydrate medium, 65 gram dalam 1000 ml aquadest.
- c. Memasukkan kedalam tabung kecil ukuran 12 x 100 mm. Sebanyak setengah tabung.
- d. Menutup tabung dengan kapas berlemak kemudian disterilkan di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- e. Dinginkan dalam posisi miring, sehingga membentuk lereng dan dasar yang sama.

6. AIR PEPTONE

Komposisi :	Peptone	10 gram
	Na Cl	5 gram
	Aguadest	1000 ml

Cara Pembuatan :

- Melarutkan bahan – bahan tersebut dengan memanaskannya hingga larut sempurna, kemudian mengecek pH $\pm 7,0$
- Memasukkan kedalam tabung kecil ukuran 12 x 100 mm sebanyak 1/3 tabung.
- Menutup tabung dengan kapas berlemak kemudian disterilkan di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

7. MR / VP Medium (*Voges Proskover / Methyl Red*)

Komposisi :	Pepton	0,7 gram
	Glukose	0,5 gram
	Na Cl	0,30 gram
	K ₂ HPO ₄	0,5 gram
	Aquadest	100 ml

Cara Pembuatan :

- Melarutkan bahan – bahan tersebut dengan memanaskannya hingga larut sempurna, kemudian mengecek pH $\pm 7,1$.
- Memasukkan kedalam tabung kecil ukuran 12 x 100 mm. Sebanyak 1/3 tabung.
- Menutup tabung dengan kapas belemak kemudian disterilkan di autoclave pada suhu 110°C selama 10 menit.

8. SIMONE CITRATE AGAR

Komposisi :	Magnesium Sulfate	0,02 gram
	Mono Ammonium Phosphat	0,1 gram
	Dipotassium Phospate	0,1 gram
	Sidium Citrat	0,2 gram
	Na Cl	0,2 gram

Agar	0,5 gram
B.I.B	0,08 gram
Aguadest	100 ml

Cara Pembuatan :

- a. Larutkan Magnesium Sulfate, Mono Ammonium Phosphatase, Dipotasium Phosphate, Nacl dalam Aguadest. Masukkan agar kemudian panaskan sampai larut sempurna.
- b. Tambahkan larutan B.I.B 0,4 %, pH antara 6,8 – 7,0
- c. Tambahkan Natrium Citrat.
- d. Bagikan dalam tabung ukuran 12 x 100 mm, masing-masing $\frac{1}{4}$ tabung, jika perlu pH ditest kembali
- e. Steril dalam autoclave 121°C selama 20 menit dan bekukan pada posisi miring.

Lampiran 4

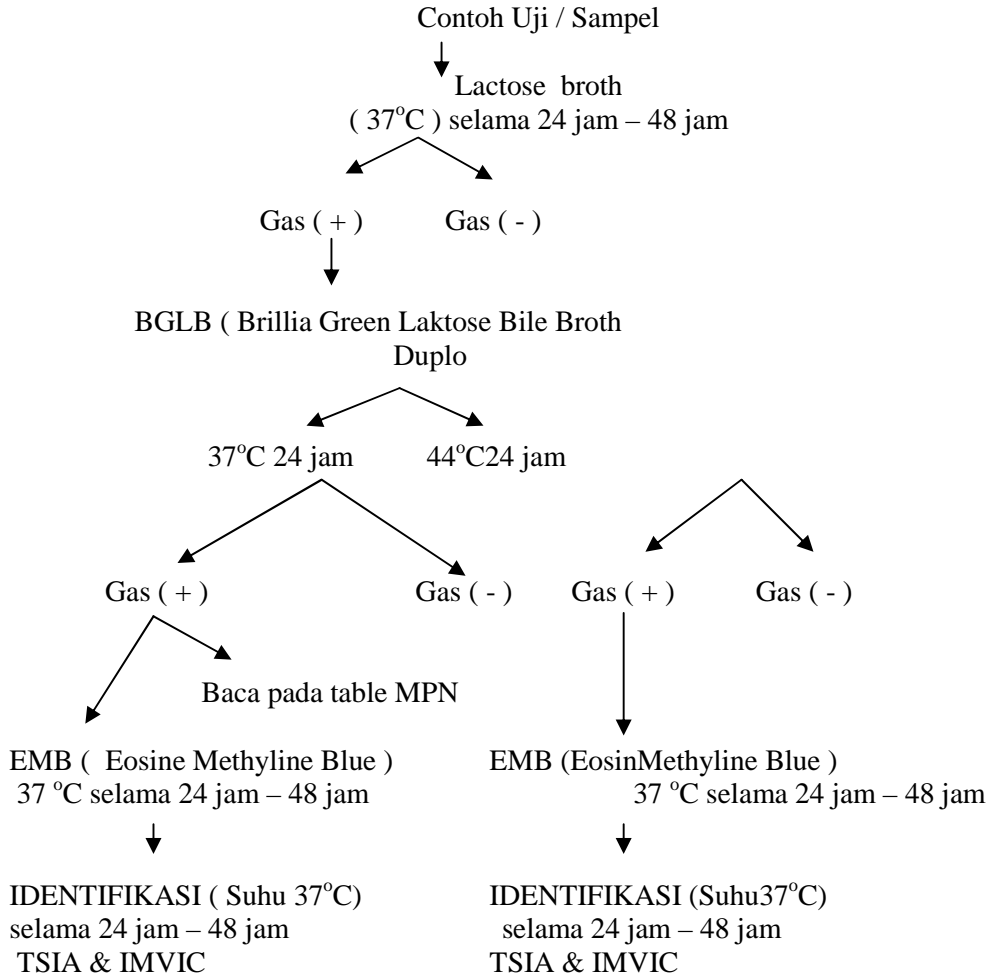
STERILISASI MENGGUNAKAN AUTOCLAVE

Teknik :

1. Autoclave di isi dengan air aquadest sampai tanda.
2. Alat dan bahan yang akan di steril di masukan kedalam autoclave.
3. Tutup autoclave dengan rapat.
4. Sambungkan autoclave dengan sumber listrik.
5. Buka saluran pengeluaran uap air.
6. Putar tombol pada tekanan 1 Atm 121oC.
7. Tekan tombol On.
8. Tunggu sampai bunyi mendesis stabil, kemudian tutup saluran pengeluaran uap air.
9. Putar Timer selama 15 menit.
10. Setelah selesai proses sterilisasi, tekan tombol Off.
11. Buka saluran pengeluaran uap air, tunggu sampai suara mendesis hilang.
12. Buka tutup autoclave dan biarkan alat/ bahan yang sudah disteril pada suhu kamar.
13. Alat/ bahan steril siap dipakai.

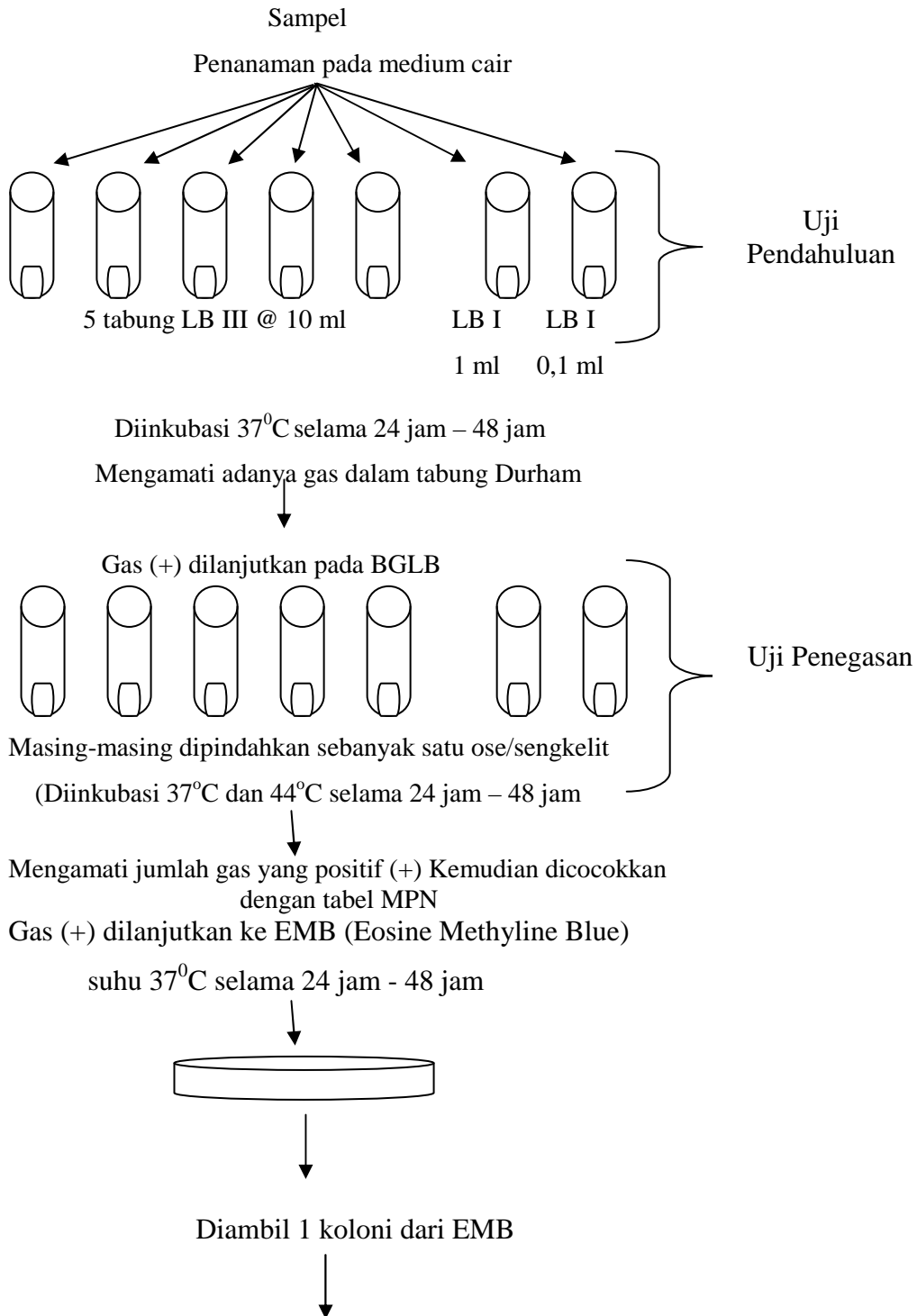
Lampiran 5

SKEMA CARA UJI



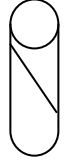
Lampiran 6

SKEMA PEMERIKSAAN Coliform DENGAN METODE MPN (RAGAM 5 x 10ml, 1 x 1 ml, 1x0,1 ml) PADA AIR MINUM ISI ULANG





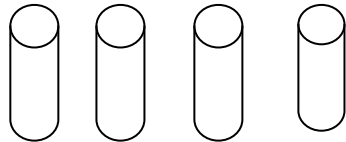
Ditanam pada media TSIA suhu 37⁰C selama 24 jam – 48 jam



Diambil 1 koloni dari TSIA

Ditanam pada media Air Pepton, MR, VP, Citrate

Suhu 37⁰C selama 24 jam – 48 jam



Lampiran 7

Tabel MPN *Coliform* (Ragam 5x10ml, 1x1ml, 1x0,1ml)

Volume			Indeks MPN / 100 ml
5x10 ml	1x1 ml	1x0,5 ml	
0	0	1	2
0	1	0	2
0	1	1	1
1	0	0	2,2
1	0	1	4,4
1	1	0	4,4
1	1	1	6,7
2	0	0	5
2	0	1	7,5
2	1	0	7,6
2	1	1	10
3	0	0	8,8
3	0	1	12
3	1	0	12
3	1	1	16
4	0	0	15
4	0	1	20
4	1	0	21
4	1	1	27
5	0	0	38
5	0	1	96
5	1	1	240