

Lampiran 01. Analisa Sidik Ragam Data Jumlah Total Bakteri  
 (TPC). (Sujana, 1989)

Hasil Perhitungan Jumlah Total Bakteri  
 Tiap Mililiter Sampel

BLOK	PERLAKUAN				TOTAL
	A	B	C	D	
I	16	21	31	37	105
II	19	24	31	35	109
III	21	26	31	35	113
TOTAL	56	71	93	107	327
RATA-2	18,67	23,67	31	35,67	

$$1. \text{ FK} = \frac{327^2}{12} = 8910,75$$

$$2. \text{ JK Total} = 16^2 + 19^2 + 21^2 + 21^2 + 24^2 + 31^2 \cdot 3 + \\ 31^2 + 37^2 + 35^2 + 35^2 - \left( \frac{327^2}{12} \right) \\ = 9.453 - 8.910,75 \\ = 542,25$$

$$3. \text{ JK Blok} = \left( \frac{105^2 + 109^2 + 113^2}{4} \right) - \text{FK} \\ = \left( \frac{11.025 + 11.881 + 12.769}{4} \right) - 8910,75 \\ = 8.918,75 - 8.910,75 \\ = 8$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JKP}_{\text{perlakuan}} &= \left( \frac{56^2 + 71^2 + 93^2}{3} \right) - \text{FK} \\
 &= \left( \frac{3.136 + 50.411 + 8.649}{3} + 11.449 \right) - \text{FK} \\
 &= 9.425 - 8.910,75 \\
 &= 514,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5, \text{ JK Error} &= \text{JKT} - \text{JKP} - \text{JKB} \\
 &= 542,25 - 514,25 - 8 \\
 &= 20
 \end{aligned}$$

### Analisa Varian

S.K.	db	JK	KT	Fhit	F tabel
PERLAKUAN	3	514,25	171,43	51,5**	4,76 9,78
BLOK	2	8	4	1,2 <sup>ns</sup>	5,14 10,92
GALAT	6	20	3,33		
TOTAL	11	542,25			

KK = 6,7 %

Keterangan :

- SK : Sumber Keragaman
- db : derajat bebas
- JK : Jumlah Kuadrat
- KT : Kuadrat Tengah
- KK : Koefisien Keragaman

**UJI HSD (Honesty Significant Different)**

$$\begin{aligned}
 \text{HSD (0,05)} &= Q (3,6) \times \sqrt{\frac{\text{KTG}}{n}} \\
 &= 4,84 \times \sqrt{\frac{3,33}{3}} \\
 &= 4,84 \times 1,0536 \\
 &= 5,099
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{HSD (0,01)} &= Q (3,6) \times \sqrt{\frac{\text{KTG}}{n}} \\
 &= 6,33 \times 1,0536 \\
 &= 6,67
 \end{aligned}$$

**Tabel Hasil Pembanding Nilai Tengah**

PERLAKUAN	NT	SELISIH		
D	35,67	D		
C	31	4,67 <sup>ns</sup> C		
B	23,67	12**	7,33**	B
A	18,67	17**	12,33**	5 <sup>ns</sup>

**ANALISA REGRESI**

Blok	Perlakuan			
	A	B	C	D
I	16	21	31	37
II	19	24	31	35
III	21	26	31	35

X	Y	$X^2$	$Y^2$	XY
0	16	0	256	0
0	19	0	361	0
0	21	0	441	0
4	21	16	441	84
4	24	16	576	96
4	26	16	676	104
8	31	64	961	248
8	31	64	961	248
8	31	64	961	248
12	37	144	1369	444
12	35	144	1225	420
12	35	144	1225	420
EX=72	EY=327	$EX^2=672$	$EY^2=9453$	$EXY=2312$

$$\begin{aligned}
 a &= \frac{EY \cdot EX^2 - EX \cdot EXY}{nEX^2 - (EX)^2} \\
 &= \frac{327 \cdot 672 - 72 \cdot 2312}{12 \cdot 672 - 72^2} \\
 &= \frac{219744 - 166464}{8064 - 5184} \\
 &= \frac{53280}{2880} \\
 &= 18,5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 b &= \frac{nEXY - EX \cdot EY}{nEX^2 - (EX)^2} \\
 &= \frac{12.2312 - 72.327}{12.672 - 72^2} \\
 &= \frac{27744 - 23544}{8064 - 5184} \\
 &= \frac{4200}{2880} \\
 &= 1,4583 \\
 &= 1,46
 \end{aligned}$$

Persamaan regresi  $Y = a + bX$

$$Y = 18,5 + 1,46X$$

$$\begin{aligned}
 1. \quad (\frac{EY}{n})^2 &= \frac{327^2}{12} = 8910,75 \\
 2. \quad JK(b/a) &= b\{EXY - (\frac{EX}{n})(\frac{EY}{n})\} \\
 &= 1,46(2312 - \frac{72.327}{n}) \\
 &= 1,46(2312 - 1962) \\
 &= 511 \\
 3. \quad JK \text{ Residu} &= EY^2 - JK(b/a) - (\frac{EY}{n})^2 \\
 &= 9453 - 511 - 8910,75 \\
 &= 31,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK Error} &= \{16^2 + 19^2 + 21^2 - (\frac{16 + 19 + 21}{3})^2\} + \\
 &\quad \{21^2 + 24^2 + 26^2 - (\frac{21 + 24 + 26}{3})^2\} + \\
 &\quad \{31^2 + 31^2 + 31^2 - (\frac{31 + 31 + 31}{3})^2\} + \\
 &\quad \{37^2 + 35^2 + 35^2 - (\frac{37 + 35 + 35}{3})^2\} + \\
 &= (256+361+441-1045,33) + (441+576+676 - \\
 &\quad 1680,33) + (961 + 961 + 961 - 2883) + \\
 &\quad (1369 + 1225 + 1225 - 3816,33) \\
 &= 12,67 + 12,67 + 0 + 2,67 \\
 &= 28,01
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ JK TC} &= \text{JK Residu} - \text{JK Error} \\
 &= 31,25 - 28,01 \\
 &= 3,24
 \end{aligned}$$

### ANOVA

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftab
Total	12	945			
Regresi(a)	1	8910,75	8910,75		
Regresi(b/a)	1	511	511		
Residu	10	31,25	3,125		
Tuna Cocok	2	3,24	1,62	0,46 <sup>ns</sup>	4,46 8,65
Error	8	28,01	3,5		

### ANALISA KORELASI

$$\begin{aligned}
 r^2 &= \frac{nEXY - (\bar{X})(\bar{Y})}{\{nEX^2 - (\bar{X})^2\}\{nEY^2 - (\bar{Y})^2\}} \\
 &= \frac{12.2312 - 72.327}{(12.672-72^2)(12.9453-327^2)} \\
 &= \frac{27744 - 23544}{(8064-5184)(113436-106929)} \\
 &= \frac{4200}{2880.6507} \\
 &= \frac{4200}{4328,99} \\
 &= 0,97
 \end{aligned}$$



lampiran 02

### **PEMBUATAN MEDIUM**

(Anonim, 1982)

**A. Medium Laktosa Cair (LB, Laktosa Broth).**

Komposisi bahan :

- Lab-lemco bubuk	3	gram
- pepton	5	gram
- laktosa	5	gram

Bahan ditimbang 13 gram dilarutkan dalam 1 liter aquades, dipanaskan sehingga semua bahan terlarut, pH diukur  $6,9 \pm 0,2$  kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml, sebelumnya dalam tabung reaksi diberi tabung durham yang diletakkan terbalik, disetirlikan dengan autoklaf temperatur  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.

**B. Medium Briliant Green Bile Broth (BGLB).**

Komposisi bahan :

- pepton	10	gram
- laktosa	10	gram
- ox bile	20	gram
- briliant green	0,0133	gram

Bahan ditimbang 40 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades, dipanaskan, pH diukur hingga  $7,4 \pm 0,2$  selanjutnya dimasukkan kedalam tabung reaksi yang didalamnya diletakkan tabung durham terbalik.

Masing-masing tabung reaksi diisi 5 ml kemudian ditutup

rapat dengan kapas dan disterilkan dengan autoklaf temperatur 121 °C selama 15 menit.

C. Medium *Endo Agar* (EA).

Komposisi bahan :

- pepton	10	gram
- laktosa	10	gram
- potassium phospat	3,5	gram
- sodium sulfit	2,5	gram
- agar	10	gram

Bahan ditimbang 36 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades ditambahkan 4 ml larutan basic Fuchsin, dipanaskan kemudian erlenmeyer ditutup rapat dengan kapas dan disterilkan dengan autoklaf temperatur 121 °C selama 15 menit.

D. Medium Manitol Salt Agar (MSA).

Komposisi bahan :

- Lab-lemco bubuk	1	gram
- pepton	10	gram
- manitol	10	gram
- NaCl	75	gram
- phenol red	0,025	gram
- agar	15	gram

Bahan ditimbang 111 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades dipanaskan hingga semua bahan terlarut, pH diukur  $7,5 \pm 0,2$ . Erlenmeyer ditutup rapat dengan kapas

dan disterilkan dengan autoklaf temperatur 121 °C selama 15 menit.

E. Medium *Bismuth Sulfit Agar* (BSA).

Komposisi bahan :

- pepton	5	gram
- lab lemco bubuk	5	gram
- dekstrosa	5	gram
- disodium phosphat	4	gram
- feri sulphat	0,33	gram
- indikator bismuth sulphite	8	gram
- brilliant green	0,016	gram
- agar	12,7	gram

Bahan ditimbang 40 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades dipanaskan sampai semua bahan benar-benar terlarut, dijaga jangan sampai mendidih. pH diukur 7,5 ± 0,2. Setelah suhu 45 °C - 50 °C medium dituangkan pada petri steril, tiap petri 15 ml, ditunggu sampai padat baru digunakan.

F. Medium *Salmonela Shigella Agar* (BSA).

Komposisi bahan :

- pepton	5	gram
- lab lemco bubuk	5	gram
- laktosa	10	gram
- bile salts	8,5	gram
- natrium sitrat	10	gram
- natrium thiosulfat	8,5	gram

- feri sitrat	1	gram
- brilliant green	0,000333	gram
- neutral red	0,025	gram
- agar	15	gram

Bahan ditimbang 63 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades dipanaskan sampai semua bahan benar-benar terlarut, pH diukur  $7,5 \pm 0,2$ . Setelah temperatur  $45^{\circ}\text{C} - 50^{\circ}\text{C}$  medium dituangkan pada petri steril, isi masing-masing petri 15 ml, ditunggu sampai padat baru digunakan.

#### G. Air pepton 0,1 %

Bahan :

- pepton	10	gram
----------	----	------

Bahan ditimbang dilarutkan kedalam 1 liter aquades dengan cara dipanaskan, setelah semua larut pH diukur hingga  $7 \pm 0,2$ . Setelah itu dimasukkan kedalam tabung reaksi masing-masing diisi 9 ml, tabung ditutup rapat dengan kapas. Kemudian disterilkan dengan autoklaf temperatur  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.

#### H. Medium Triple Sugar Iron Agar (TSIA).

Komposisi bahan :

- lab lemco bubuk	3	gram
- ekstrak yeast	3	gram
- pepton	20	gram
- NaCl	5	gram
- Laktosa	10	gram

- Sukrosa	10	gram
- dektrosa	1	gram
- feri sitrat	0,3	gram
- natrium thiosulfat	0,3	gram
- phenol red	secukupnya	
- agar	12	gram

Bahan ditimbang 65 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades, dipanaskan dan diaduk , setelah semua bahan terlarut, pH diukur  $7,4 \pm 0,2$ . Setelah agak dingin medium diisikan pada tabung reaksi, tiap tabung diisi 8 ml, diseterilkan dengan autoklaf temperatur  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Medium diletakkan membentuk sudut  $30^{\circ}\text{C}$  agar diperoleh posisi medium dalam tabung tegak dan miring.

#### I. Medium Nutrien Agar (NA).

Komposisi bahan :

- lab lemco bubuk	1	gram
- ekstrak yeast	2	gram
- pepton	5	gram
- sodium chloride	5	gram
- agar	15	gram

Bahan ditimbang 28 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades, kemudian dipanaskan sampai larut semua. pH diukur  $7,4 \pm 0,2$ . Disterilisasi  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.

### J. Medium Kligler Iron Agar (KIA).

Komposisi bahan :

- lab lemco bubuk	3	gram
- ekstrak yeast	3	gram
- pepton	20	gram
- sodium cloride	5	gram
- Laktosa	10	gram
- dektrosa	1	gram
- feri sitrat	0,3	gram
- sodium thiosulfat	0,3	gram
- phenol red	0,05	gram
- agar	12	gram

Bahan ditimbang 55 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades, dipanaskan dan diaduk sampai medium terlarut sempurna. Dibagi dalam tabung kecil 4 ml, disterilkan dalam autoklaf 121 °C selama 15 menit. Setelah keluar dari autoklaf, media dimiringkan,  $\frac{1}{2}$  bagian miring dan  $\frac{1}{2}$  bagian tegak.

### K. Medium Lysine Iron Agar (LIA).

Komposisi bahan :

- Bakteriological pepton	3	gram
- yeast ekstrak	3	gram
- dektrosa	1	gram
- L-lysine	10	gram
- dektrosa	1	gram
- feri amonium sitrat	0,5	gram

### J. Medium Kligler Iron Agar (KIA).

Komposisi bahan :

- lab lemco bubuk	3	gram
- ekstrak yeast	3	gram
- pepton	20	gram
- sodium cloride	5	gram
- Laktosa	10	gram
- dektrosa	1	gram
- feri sitrat	0,3	gram
- sodium thiosulfat	0,3	gram
- phenol red	0,05	gram
- agar	12	gram

Bahan ditimbang 55 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades, dipanaskan dan diaduk sampai medium terlarut sempurna. Dibagi dalam tabung kecil 4 ml, disterilkan dalam autoklaf 121 °C selama 15 menit. Setelah keluar dari autoklaf, media dimiringkan,  $\frac{1}{2}$  bagian miring dan  $\frac{1}{2}$  bagian tegak.

### K. Medium Lysine Iron Agar (LIA).

Komposisi bahan :

- Bakteriological pepton	3	gram
- yeast ekstrak	3	gram
- dektrosa	1	gram
- L-lysine	10	gram
- dektrosa	1	gram
- feri amonium sitrat	0,5	gram

- sodium thiosulfat	0,04	gram
- bromocresol ourple	0,02	gram
- agar	14,5	gram

Bahan ditimbang 34 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades, dipanaskan hingga larut semua dan diisikan dalam tabung kecil masing-masing tabung 2,5 ml, disterilkan 121 °C selama 15 menit, dan setelah steril didinginkan dalam posisi 1/3 miring dan 2/3 tegak.

#### L. Medium Motility Indol Ornitime (MIO).

Komposisi bahan :

- Pancreatic digest of casein	15	gram
- Pancreatic digest of gelatin	5	gram
- Yeast ekstrak	3	gram
- dektrosa	1,5	gram
- L-ornithin monoclorida	5	gram
- bromcresol purple	0,02	gram
- agar	2	gram

Semua bahan diatas dilarutkan kedalam 1 liter aquades, kemudian dipanaskan sampai terlarut sempurna dan diisikan dalam tabung kecil sebanyak 2,5 ml. Disterilkan temperatur 121 °C selama 15 menit.

#### M. Medium Thiosulfat Citrat Bile Sucrose (TCBS).

Komposisi bahan :

- Bakteriological pepton	10	gram
- yeast ekstrak	5	gram
- sodium thiosulfat	10	gram

- sodium sitrat	10	gram
- ox bile	8	gram
- sucrose	20	gram
- feri sitrat	1	gram
- sodium cloride	10	gram
- bromtimol blue	0,04	gram
- agar	14	gram

Bahan ditimbang 88 gram dilarutkan kedalam 1 liter aquades, dipanaskan sampai mendidih tiga kali, sambil digojog hingga terlarut semua, jangan di autoklaf. Pada temperatur 50 °C dituang pada petri steril.

#### M. Medium Selenite Cystein Broth (SCB).

Bahan	33	gram
- Aquades	1.000	liter

Bahan yang telah ditimbang dilarutkan dengan aquades dengan cara mendidihkan, diatur pH-nya yaitu  $7 \pm 0,2$  dan disaring. Kemudian dimasukkan dalam sejumlah tabung reaksi steril masing-masing 10 ml.

#### O. Pembuatan zat-zat untuk pengecatan.

##### 1. Gram A.

Bahan :

kristal violat	200	mg
amonium oksalat	80	mg
alkohol 96%	2	ml
aquades	100	ml

kristal violet dilarutkan dalam alkohol, amonium oksalat dilarutkan dalam aquades, kemudian larutan kristal violet dan larutan amonium oksalat dicampurkan, selanjutnya dimasukkan dalam wadah yang tertutup rapat.

#### 2. Gram B

Bahan :

yodium	200 mg
kalium yodida	700 mg
aquades	100 ml

Kalium yodida dilarutkan dengan aquades secukupnya dalam lumpang, kemudian dimasukkan yodium dan digerus hingga larut, kemudian diencerkaan dengan sisa air hingga 100 ml, selanjutnya dimasukkan dalam wadah yang tertutup rapat.

#### 3. Gram C

Bahan :

HCl pekat	3 ml
alkohol 96%	100 ml

HCl pekat dicampur dengan alkohol 96%, selanjutnya dimasukkan dalam wadah yang tertutup rapat.

#### 4. Gram D

Bahan :

Safranin	250 mg
alkohol 96%	10 ml
aguades	100 ml

Safranin dilarutkan dengan alkohol 96%, lalu ditambah dengan aguades, kemudian dimasukkan dalam wadah yang tertutup rapat.

P. Biru Metilen (MB).

Bahan :

- |                |        |
|----------------|--------|
| - Metilen biru | 1 mg   |
| - aguades      | 100 ml |

Metilen biru dilarutkan dengan aquades, lalu dimasukkan dalam wadah yang tertutup rapat dengan baik.



Diagram Garis

Persamaan Regresi Antara jumlah Bakteri  
Dengan Perlakuan setelah Pasteurisasi

