

## Lampiran 1. Metode Pengujian Mikrobiologis

### ○ Uji *Staphylococcus*

- Menggunakan media selektif MSA (*Manitol Salt Agar*) karena *Staphylococcus* tumbuh optimal pada kadar garam 7,5% dan dapat memfermentasi manitol dan menghasilkan asam.
- Waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37 °C.
- Media MSA mengandung indikator pH berupa *phenol red* dengan *range* pH 6,8-8,4 (kuning-merah). pH awal adalah  $7,4 \pm 0,2$  (merah) berubah menjadi kuning yang menandakan adanya aktivitas *Staphylococcus* yang memfermentasi manitol menghasilkan asam yang menurunkan pH media MSA.
- Uji identifikasi lanjutan berupa:
  - Uji Katalase (untuk membedakan *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*). Jika hasil uji positif maka mikroba yang ada adalah *Staphylococcus*.
  - Uji Koagulase untuk menentukan jenis atau *strain Staphylococcus*.

### ○ Uji *Salmonella*

- Menggunakan media selektif SS (*Salmonella Shigella*) Agar dan media BSA (*Bismuth Sulfit Agar*). Hasil uji positif untuk media SS (warna media menjadi kuning) dan BSA menandakan bahwa *Salmonella* positif.
- Waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37 °C.
- Uji identifikasi lanjutan berupa:
  - Uji Deret (media: KIA, LIA, SSS dan MIO) dan uji IMVIC

○ **Uji *Vibrio***

- Menggunakan media selektif TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt*). Menggunakan media TCBS karena *Vibrio* tahan kadar garam tinggi dan pH tinggi (8,5-9,3) serta mampu memfermentasi sitrat yang ada menghasilkan asam.
- Waktu inkubasi 24 jam dengan suhu 37 °C.
- Media TCBS mengandung indikator pH berupa BTB (Brom Timol Biru) dengan *range* pH 6,0-7,6 (kuning-biru). pH awal adalah 8,6 (biru) berubah menjadi kuning yang menandakan adanya aktivitas *Vibrio* yang memfermentasi sitrat menghasilkan asam yang menurunkan pH media TCBS.
- Hasil uji positif untuk *Vibrio* jika warna media berubah menjadi kuning dengan bentuk koloni bulat berdiameter 2-5 mm.
- Uji identifikasi lanjutan berupa:
  - Uji Deret (media: KIA, LIA, SSS dan MIO) dan uji IMVIC

**ji *Escherichia coli***

- Uji Penduga menggunakan metode MPN
- Uji Penentu menggunakan media NB (*Nutrient Broth*) dan EMB (*Eosin Methylene Blue*) yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.
- Uji Pelengkap menggunakan media NA (*Nutrient Agar*) yang diamati dengan pengecatan gram serta menggunakan media KFL (Kaldu Fermentasi Laktosa) dengan pengamatan terbentuknya asam (warna berubah dari hijau menjadi kuning) dan gas.
- Uji Identifikasi *strain E.coli* dengan uji IMVIC.

## Lampiran 2. Metode Pengujian Antibiotik

1. Tahap Persiapan
  - a. Diambil  $\pm$  100 gram sampel lalu dipotong-potong dan dimasukkan *stomacher*.
  - b. Diambil 3 gram bahan dan ditambahkan 6 ml *ethyl acetate* kemudian dihomogenkan dengan *vortex*.
  - c. Dikocok tangan 10 detik dan dilanjutkan dengan *vortex* selama 1 menit.
  - d. Disentrifuse 10 menit, 2000 rpm.
  - e. Diambil suspensi sebanyak 2 ml dan didiamkan pada *rotary evaporator*.
  - f. Dicampur dengan  $\pm$  1 ml iso-octan atau kloroform 2 : 3, dilarutkan dan ditambahkan 1 ml buffer kemudian *dimixing (vortex)* 1 menit.
  - g. Disentrifuse 10 menit, 3000 rpm kemudian diambil 20 ml dan dilanjutkan dengan tahap pengujian.
2. Tahap Pengujian
  - a. Wells dimasukkan ke dalam *frame holder* dilakukan secara duplo dan posisi standar serta sampel dicatat dan ditandai.
  - b. Ditambahkan 50  $\mu$ L larutan standar yang telah diencerkan ke dalam wells (dilakukan juga untuk larutan sampel).