
 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pembuatan Media Uji Batas mikroba</b>	No : PPM009
		Revisi : 07
		Berlaku : 15 MAR 2021
		Paraf : 

### 1 Tujuan

Agar pembuatan media untuk uji batas mikroba dapat dilakukan dengan benar, sehingga mencegah terjadinya kesalahan yang dapat mempengaruhi kualitas mikroba

### 2 Cakupan

Protap ini sebagai panduan dalam membuat media untuk uji batas mikroba mikrobiologi yang meliputi bahan baku, bahan pengemas, produk, ruangan dan air serta pengujian lain yang diperlukan.

### 3 Penanggung Jawab

Penanggung jawab protap ini adalah Supervisor Pengujian Mikrobiologi

### 4 Alat dan Perekasi

#### 4.1 Alat



- 4.1.1 *Autoclave*
- 4.1.2 Botol media 250 ml, 500 ml dan 1000 ml.
- 4.1.3 *Hot plate*
- 4.1.4 *Refrigerator*
- 4.1.5 Batang pengaduk / *magnetic stirer*
- 4.1.6 Labu erlenmeyer 2 l dan 1.5 l
- 4.1.7 Tabung reaksi
- 4.1.8 *Dispenser*
- 4.1.9 Tabung *Durham*
- 4.1.10 Pipet ukur
- 4.1.11 Cawan Petri
- 4.1.12 Timbangan
- 4.1.13 Silinder 100 ml
- 4.1.14 pH meter

#### 4.2 Perekasi



Perekasi HCl 1 N atau NaOH 1 N digunakan untuk *adjust* pH media bila kurang atau lebih dari persyaratan seperti yang tertera di dalam kemasan, gunakan tetes demi tetes hingga pH sesuai

### 5 Prosedur

- 5.1 Media Tryptic Soy Broth (TSB) / AOAC Lethen Broth (ALB) / Buffered Pepton Water (BPW) / Buffer Phosphat 7.2, Rappaport Vassiliadis Salmonella Enrichment Broth (RVSEB), Enterobacteriaceae Enrichment Broth Mossel (EEBM).
  - 5.1.1 Timbang media / bahan seperti yang tertera pada etiket kemasan media dalam erlenmeyer.
  - 5.1.2 Larutkan dengan air DIW, panaskan di atas *hot plate* menggunakan pengaduk atau *magnetic stirer* hingga larut, cek pH nya.
  - 5.1.3 Bagi-bagikan ke dalam botol media 250 ml sebanyak 90 ml tiap botol atau 9 ml dalam tabung menggunakan tabung silinder atau pipet sebagai pengukur.
  - 5.1.4 Sterilkan dalam *Autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit, kecuali untuk media EEBM waktu pensterilan selama 5 menit.

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pembuatan Media Uji Batas</b> <b>mikroba</b>	No : PPM009
		Revisi : 07
		Berlaku : 15 MAR 2021
		Paraf : 

- 5.1.5 Setelah dingin beri etiket dan penandaan kemudian simpan media pada rak media di kelas D Laboratorium Mikrobiologi untuk siap digunakan.
- 5.2 Media Tryptic Soy Agar (TSA) / Potato Dextrose Agar (PDA) / Sabaroud Dextrose Agar (SDA) / Baird Parker Agar (BPA) / Brilliant Green Agar (BGA) / Mannitol Salt Agar (MSA) / Mac Conkey Agar (MCA) / Eosin Methylen Blue Agar (EMBA).
- 5.2.1 Timbang media/bahan seperti yang tertera pada etiket kemasan media dalam botol media.
- 5.2.2 Larutkan dengan air (DIW), panaskan di atas *hot plate* menggunakan pengaduk atau *magnetic stirer* hingga larut, cek pH nya.
- 5.2.3 Sterilkan dalam *Autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit.
- 5.2.4 Setelah dingin beri etiket dan penandaan kemudian simpan media pada rak media di kelas D Laboratorium Mikrobiologi.
- 5.2.5 Jika akan digunakan, cairkan media di atas tangas air hingga cair sempurna, media digunakan pada suhu  $\pm 45$  °C.
- 5.2.6 Catatan:
- Untuk media BGA, Mac Conkey Agar, Eosin Methylen Blue Agar, MSA pada suhu  $\pm 45$  °C dituangkan kedalam Petri masing-masing 20 ml, biarkan beku dan media siap digunakan. Sisa media dalam cawan Petri dapat disimpan didalam *refrigerator*, dibungkus dalam plastik. Jika akan digunakan keluarkan media dari *refrigerator*, biarkan pada suhu ruang, sampai sesuai dengan suhu ruang, selanjutnya media siap untuk digunakan lagi.
  - Untuk media BPA (Baird Parker Agar), pada suhu  $\pm 45$  °C ditambahkan 5,0 ml *Egg Yolk Tellurid* ke dalam setiap 95 ml media, campur selanjutnya tuang kedalam cawan Petri masing-masing  $\pm 20$  ml biarkan beku dan media siap untuk digunakan. Sisa media dalam cawan Petri dapat disimpan didalam *refrigerator*, dibungkus dalam plastik. Jika akan digunakan keluarkan media dari *refrigerator*, biarkan pada suhu ruang, sampai sesuai dengan suhu ruang selanjutnya media siap untuk digunakan lagi.
  - Pencairan media di dalam water bath mendidih hanya boleh 1kali pencairan saja, Buat media sebanyak yang dibutuhkan Segera pindahkan media yang sudah cair ke dalam waterbath suhu 50°C bila tidak segera digunakan.
- 5.3 Media Chromocult Agar / Violet Red Bile Agar (VRBA) / Bismut Sulphite Agar (BSA), Xylose Lysine Deoxycholate (XLDA)
- 5.3.1 Timbang media / bahan seperti yang tertera pada etiket kemasan media dalam botol media.
- 5.3.2 Larutkan dengan air (DIW), panaskan diatas *hot plate* menggunakan pengaduk atau *magnetic stirer* hingga larut, cek pH.
- 5.3.3 Panaskan terus dalam penangas atau *hot plate* suhu  $\pm 90$  °C ( tidak boleh lebih).
- 5.3.4 Dinginkan hingga suhu antara 45 - 50 °C, selanjutnya tuang dalam cawan Petri masing-masing  $\pm 20$  ml dan biarkan beku. Media siap digunakan.
- 5.3.5 Sisa media dalam cawan Petri dapat disimpan di dalam *refrigerator* dibungkus dalam plastik. Jika akan digunakan keluarkan media dari *refrigerator*. Biarkan pada suhu ruang sampai sesuai dengan suhu ruang, selanjutnya media siap untuk digunakan lagi.

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pembuatan Media Uji Batas</b> <b>mikroba</b>	No : PPM009
		Revisi : 07
		Berlaku : 15 MAR 2021
		Paraf : 

5.4 Media Cetrimide Agar (CA) / *Pseudomonas* Agar F / P (PAF/PAP)

- 5.4.1 Timbang media / bahan seperti yang tertera pada etiket kemasan media dalam botol media.
- 5.4.2 Larutkan dengan air (DIW), panaskan di atas *hot plate* menggunakan pengaduk atau *magnetic stirer* hingga larut, cek pH.
- 5.4.3 Sebelum dilarutkan tambahkan 10 ml glycerol untuk tiap 1 liter media.
- 5.4.4 Sterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit.
- 5.4.5 Dinginkan hingga suhu antara 45 - 50 °C, selanjutnya tuang dalam cawan Petri masing-masing ± 20 ml dan biarkan beku. Media siap digunakan.
- 5.4.6 Sisa media dalam cawan Petri dapat disimpan didalam *refrigerator*, dibungkus plastik. Jika akan digunakan, keluarkan media dari *refrigerator*, biarkan pada suhu ruang sampai sesuai dengan suhu ruang selanjutnya media siap untuk digunakan lagi.

5.5 Media Triple Sugar Iron Agar (TSI Agar) / Lysine Iron Agar / Simon Citrate Agar / SIM (Sulphide Indole Motility Medium), MR-VP Broth, Brain Heart Infusion Broth (BHIB)


- 5.5.1 Timbang media / bahan seperti yang tertera pada etiket kemasan media dalam botol media.
- 5.5.2 Larutkan dengan air (DIW), panaskan di atas *hot plate* menggunakan pengaduk atau *magnetic stirer* hingga larut, cek pH.
- 5.5.3 Bagi-bagikan dalam tabung sebanyak 5 ml tiap tabung menggunakan pipet atau *dispenser*.
- 5.5.4 Tutup tabung dengan kapas atau alufoil, bungkus dengan kertas perkamen dan sterilkan dalam *autoclave* suhu 121 °C selama 15 menit.
- 5.5.5 Dinginkan dalam suhu ruang beri etiket dan penandaan kemudian simpan pada rak media di kelas D Laboratorium Mikrobiologi bila belum digunakan. Untuk media TSI Agar, LI agar dan Simon Citrate Agar media diletakkan miring, agar terbentuk agar miring dalam tabung ketika selesai disteril.

5.6 Media Lactose Broth (LB), *Escherichia coli* Broth (EcB), Brilliant Green 2% Bile Broth (BGLB), Mac Conkey Broth (MCB), dalam tabung.

- 5.6.1 Timbang media / bahan seperti yang tertera pada etiket kemasan media dalam botol media.
- 5.6.2 Larutkan dengan air (DIW), panaskan diatas *hot plate* menggunakan pengaduk atau *magnetic stirer* hingga larut, cek pH nya.
- 5.6.3 Bagi-bagikan dalam tabung sebanyak 9 ml untuk tiap tabung menggunakan pipet atau *dispenser*.
- 5.6.4 Masukkan tabung *Durham* ke dalam tiap tabung.
- 5.6.5 Tutup tabung dengan kapas atau alufoil, bungkus dengan kertas perkamen dan sterilkan dalam *autoclave* suhu 121 °C selama 15 menit.
- 5.6.6 Dinginkan dalam suhu ruang beri etiket dan penandaan kemudian selanjutnya media siap untuk digunakan simpan pada rak media di kelas D Laboratorium Mikrobiologi bila belum akan digunakan atau media berlebih

5.7 Media Reinforce Clostridia Medium (RCM)

- 5.7.1 Timbang media / bahan seperti yang tertera pada etiket kemasan media dalam botol media.

 <b>indofarma</b>	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pembuatan Media Uji Batas</b> <b>mikroba</b>	No : PPM009
		Revisi : 07
		Berlaku : 15 MAR 2021
		Paraf : J.

- 5.7.2 Larutkan dengan air (DIW), panaskan diatas *hot plate* menggunakan pengaduk atau *magnetic stirer* hingga larut, cek pH nya
- 5.7.3 Bagikan kedalam tabung sebanyak 15 ml pada tiap tabung menggunakan pipet atau *dispenser* kemudian tutup dengan tidak terlalu rapat atau renggang.
- 5.7.4 Sterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit
- 5.7.5 Dinginkan dalam suhu ruang beri etiket dan penandaan kemudian selanjutnya media siap untuk digunakan.
- 5.7.6 Simpan media didalam *refrigerator*. Jika akan digunakan, keluarkan media dari *refrigerator*, biarkan pada suhu ruang sampai sesuai dengan suhu ruang selanjutnya media siap untuk digunakan lagi

#### 6 Daluwarsa

Batas waktu penggunaan media mengacu pada Daftar No. DPM005

#### 7 Catatan Perubahan



Revisi	Berlaku	Perubahan
04	19 Oct 2017	1. Perubahan pada format dokumen penanggung jawab dan kode bidang
05	03 Oct 2018	1. Perubahan pada logo perusahaan 2. Perubahan pada format <i>header</i> 3. Perubahan pada alat yaitu penggantian kertas pH menjadi pH meter dan penambahan <i>refrigerator</i> 4. Perubahan pada cara pembuatan yaitu penggantian tempat penyimpanan media dari lemari media menjadi rak media di Kelas D Laboratorium Mikrobiologi, dan dari lemari es menjadi <i>refrigerator</i> 5. Perubahan pada daluwarsa yaitu dengan penambahan keterangan Daftar No. DPM005
06	18 Des 2020	1. Perubahan pada prosedur dengan penambahan beri penandaan dan etiket 2. Perubahan pada prosedur yaitu penghilangan pada poin 5.3 media Chromocult Agar dan poin 5.7 media untuk sampling ruangan Tryptic Soy Agar With Lecithin dan Polisorbate.
07	15 MAR 2021	1. Perubahan pada penambahan Media <i>Reinforce Clostridia Medium</i> (RCM)

#### 8 Tinjauan ulang





Protap ini akan ditinjau ulang setiap 2 tahun sekali atau kurang jika diperlukan oleh Manajer Pengawasan Mutu dan Manajer Pemastian Mutu.

#### 9 Distribusi

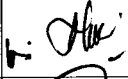
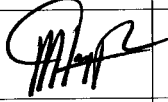
Bidang Pengawasan Mutu

	<b>PROTAP</b> <b>Cara Pembuatan Media Uji Batas mikroba</b>	No : PPM009
		Revisi : 07
		Berlaku : 15 MAR 2021
		Paraf : 

## 10 Pengesahan

Keterangan	Jabatan	Kode Bidang	Tanda tangan	Tanggal
Disusun oleh	Supervisor Pengujian Mikrobiologi,	AM		09 Mar 2021
Diperiksa oleh	Asman Pengujian Mikrobiologi dan IPC	AM		09 Mar 2021
Disetujui oleh	Manajer Pengawasan Mutu	AM		09 Mar 2021
	Manajer Pemastian Mutu	PM		09 Mar 2021

## 11 Tinjauan

No.	Peninjau	Tgl. Tinjauan	Tanda tangan	Rekomendasi
1	Manajer Pengawasan Mutu	08 Mar 2023		Protap masih sesuai
	Manajer Pemastian Mutu	08 mar 2023		masih sesuai
2	Manajer Pengawasan Mutu			
	Manajer Pemastian Mutu			

