BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah observasional dengan pendekatan deskriptif, yaitu penelitian yang bertujuan untuk mendeskripsikan hasil dari pengamatan yang telah dilakukan (Susilo, 2015). Penelitian ini terdapat 5 paramater uji, meliputi uji Suhu, pH, BOD (*Biochemichal Oxygen Demand*), COD (*Chemichal Oxygen Demand*), dan Coli tinja. Penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 1 kali pada 1 jenis sampel, jumlah unit percobaan sebanyak 5 unit, dan dilakukan secara berkala selama 3 bulan.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari - April 2020 di Laboratorium Kualitas Air (LKA) Perusahan Umum Jasa Tirta I Malang yang bertempat di Jl. Surabaya, Sumbersari, Kec. Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur 65115.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

- 1. Uji pH menggunakan alat pH meter
- 2. Uji Suhu menggunakan alat Termometer
- 3. Uji BOD menggunakan alat sebagai berikut: Botol inkubasi \pm 150 ml, Inkubator dengan temperatur 20°C \pm 1°C, DO meter, Gelas ukur 250 ml 500 ml, Pipet ukur 10 ml, Aerator, Tabung aerasi, Spektrofotometer UV-Visible 1601
- 4. Uji COD menggunakan alat sebagai berikut: Tabung mikro COD dengan kapasitas ± 10 ml dan bertutup, Reactor COD, Mikropipet 0,001 μ l, Alatalat gelas
- 5. Uji Coli Tinja (MPN) menggunakan alat sebagai berikut: Neraca analitik, Pipet ukur 10 ml yang sudah disterilkan, Pipet bulb, Tabung reaksi, Rak Tabung, Korek Api, Pembakar Alkohol, Jarum ose, Hot plate, Mikro pipet, Magnetic stirrer, Baker glass 2000 ml, Neraca, Spatula, Wadah tabung reaksi, Autoklaf, Inkubator, Kulkas, Laminar air flow, dan Tabung Durham

3.3.2. Bahan

- 1. Uji pH dan suhu hanya membutuhkan aquadest sebagai larutan pembilas alat
- Uji COD membutuhkan bahan sebagai berikut: Larutan Buffer Phosphat, Larutan Magnesium Sulfat (MgSO₄), Larutan Besi(III) Klorida (FeCl₃), Larutan Kalsium Klorida (CaCl₂), Larutan Asam Sulfat (H₂SO₄) 1N, Larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 1N
- 3. Uji BOD membutuhkan bahan sebagai berikut: Air Pengencer, Larutan Seed, Larutan Glukose Asam Glutamat (larutan standart BOD \pm 194 mg/l), Air Laut Buatan, salinitas 19%, Larutan penghambat proses nitrifikasi (senyawa piridin), Kalium Hydrogen Ptalat (HOOC $_6$ H $_4$ COOK), Larutan Campuran K $_2$ Cr $_2$ O $_7$ HgSO $_4$ \pm 0,02 N, Larutan Campuran H $_2$ SO $_4$ pekat Ag $_2$ SO $_4$
- 4. Uji Coli Tinja (MPN) membutuhkan bahan sebagai berikut: Media LB, EC, BGLB, Karet, Alkohol, dan Air suling (Aquades).

3.4 Variabel Penelitian

Variable yang diteliti dalam penelitian ini meliputi:

- 1. Variabel Bebas
 - Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu pengujian air limbah rumah sakit di kota malang.
- 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pengujian kualitas air limbah rumah sakit di kota malang dengan parameter Suhu, pH, BOD, COD, dan coli tinja.

3.5 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi operasional penelitian

Variabel	Definisi Operasional	Metode	Alat Ukur	Skala Ukur
Uji kualitas air	Uji kualitas air merupakan pengujian yang ditujukan untuk mengetahui kualitas air meliputi air bersih maupun air limbah yang didasarkan dengan pengujian fisika, kimia dan mikrobiologi.	Metode yang digunakan berdasarkan Peraturan Gubernur No.72 Tahun 2013 Lamp III yang terdiri dari parameter fisika (temperatur, residu terlarut, dan residu tersuspensi), kimia anorganik (pH, BOD, COD, DO, total fosfat, dan ammonia logam berat,), mikrobiologi (coli tinja).	Diukur menggunakan instrument Spektrofotom eter UV-Vis 1601	Rasio
Kadar COD	Chemical Oxygen Demand (COD) merupakan kadar oksigen terlarut dalam air yang berfungsi untuk mendekomposisi bahan organic dan mengoksidasi bahan kimia anorganik.	Metode yang digunakan mengacu pada SNI 6989.2.2009 dengan menggunakan instrument Spektrofotometer UV-Vis. Ambang batas untuk kadar COD dalam air limbah rumah sakit yaitu 30 mg/L.	Diukur menggunakan instrument Spektrofotom eter UV-Vis 1601	Rasio
Kadar BOD	Biochemical Oxygen Demand (BOD) merupakan jumlah oksigen terlarut yang dibutuhkan mikroorganisme untuk menghancurkan bahan organik dalam air.	Metode yang digunakan mengacu pada APHA. 5210 B-2017 dengan menggunakan alat DO meter. Ambang batas untuk kadar BOD dalam air limbah rumah sakit yaitu 80 mg/L.	Diukur dengan menggunakan alat DO meter.	Rasio
Total E.coli	Pengujian total E.Coli dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya cemaran bakteri golongan Coliform (E.Coli bagian dari coliform) dalam medium laktosa yang diinkubasi pada suhu 35°C dalam waktu 24-48 jam.	Metode yang digunakan mengacu pada QI/LKA/53 (tabung ganda). Prinsip pengujian ini yaitu bakteri golongan Coli Tinja mempunyai kemampuan untuk memfermentasi laktosa pada suhu 35°C dalam waktu 24 jam. Adanya pertumbuhan coli tinja dapat diketahui bila ada gas pada tabung durham/kekeruhan dan pH asam. Ambang batas untuk uji coli tinja pada air limbah rumah sakit yaitu 10.000/100ml.	Menggunakan tabung reaksi yang dicocokkan dengan table MPN.	Rasio

Kualitas air	Kualitas air limbah	Kualitas air limbah rumah sakit	Disesuaikan	Ordinal
limbah	rumah sakit merupakan	diuji berdasarkan parameter-	dengan	
rumah sakit	uji kelayakan dari	parameter tertentu dan metode	parameter uji	
	limbah cair yang	tertentu berdasarkan Peraturan	fisik, kimia,	
	dihasilkan oleh	Gubernur No.72 Tahun 2013	dan	
	kegiatan rumah sakit	Lamp III tentang baku mutu air	mikrobiologi.	
	yang dilakukan untuk	limbah bagi industri dan/atau	_	
	mengetahui	usaha lainnya.		
	karakteristik fisika,	Syarat kelayakan air limbah rumah		
	kimia dan biologi dari	sakit meliputi:		
	air limbah tersebut.	• Suhu : 30°C		
	Limbah cair rumah	• pH : 6-9		
	sakit umumnya diukur	• COD : 30 mg/L		
	berdasarkan parameter	• BOD : 80 mg/L		
	BOD, dan COD.			
		• Coli tinja : 10.000/100ml		

3.6 Metode Penelitian (Prosedur Penelitian)

3.6.1. Suhu (SNI 06-6989.23.2005)

- 1. Menyiapkan sampel yang akan dilakukan pengukuran suhu
- 2. Membilas termometeer dengan aquadest
- 3. Memasukkan thermometer kedalam sampel dan di tunngu selama ±5 menit
- 4. Dibaca suhu yang terukur

3.6.2. pH (SNI 06-6989.11.2004)

- 1. Dibilas elektroda pH meter dengan air suling atau dengan contoh uji yang akan dianalisis.
- 2. Dimasukkan elektroda pH meter ke dalam gelas beker 100 ml yang sudah berisi contoh uji air dengan kedalaman ²/₃ dari elektrodanya.
- 3. Diukur konsentrasi pH dengan menekan tombol pada arah penunjukan konsentrasi pH.
- 4. Dicatat konsentrasi pH pada formulir hasil analisis pH.
- 5. Untuk hasil konsentrasi pH pada tes duplo contoh uji air tidak boleh lebih dari 10%, apabila lebih dari 10% maka analisis diulangi, dan jika hasil konsentrasi pH pada tes duplo contoh air kurang dari 10%, maka hasil dirata-rata untuk konsentrasi pH.
- 6. Tes duplo contoh air dilakukan untuk setiap contoh uji air (untuk analisis yang dilakukan di Laboratorium, sedangkan analisis yang dilakukan di lapangan tidak dilakukan).

7. Elektroda pH meter yang tidak dipakai harus disimpan dalam air suling dengan temperatur kurang dari 40°C.

3.6.3. BOD (Biochemichal Oxygen Demand) mengacu pada APHA. 5210 B-2017

1) Persiapan Air Pengencer

- 1. Dicek DO (minimal 7 mg/l) pada air pengencer yang telah diaerasi sebelum ditambah reagen.
- 2. Setelah jenuh ditambahkan larutan MgSO₄, CaCl₂, FeCl₃, dan Buffer Phosphat masing-masing 1 ml untuk tiap 1 L air pengencer.
- Ditambahkan 2 3ml larutan seed, apabila air pengencer tidak langsung digunakan setelah aerasi, maka penambahan Buffer Phosphat dilakukan saat akan digunakan.

2) Persiapan Blanko

- Dimasukkan air pengencer ke dalam botol inkubasi yang bervolume
 100 ml sampai penuh.
- 2. Analisis konsentrasi blanko DO 0 hari menggunakan alat DO meter kemudian di catat hasil pembacaannya.
- 3. Setelah selesai dianalisis, ditambahkan air pengencer hingga penuh (meluber) kemudian ditutup dengan hati-hati supaya tidak terjadi gelembung udara (dalam botol inkubasi tidak boleh terdapat gelembung).
- 4. Dimasukkan botol inkubasi ke dalam inkubator pada suhu $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari.
- 5. Setelah 5 hari botol inkubasi dikeluarkan, kemudian dibiarkan hingga suhu kamar.
- 6. Dianalisis konsentrasi DO 5 hari dengan DO meter kemudian dicatat hasil pembacaannya.

3) Analisis Standart BOD

- Dimasukkan sejumlah volume standart ke dalam gelas ukur 250 ml (volume standart tergantung dari pengencerannya).
- 2. Ditambahkan air pengencer hingga 150 ml.
- 3. Diaduk hingga homogen, kemudian dituangkan pada botol inkubasi yang bervolume ± 100 ml sampai penuh.
- 4. Analisis konsentrasi DO 0 hari dengan DO Meter, kemudian dicatat

- hasil pembacaannya.
- 5. Setelah selesai dianalisis, ditambahkan larutan standart yang telah diencerkan hingga penuh (meluber) kemudian tutup dengan hati- hati supaya tidak ada gelembung udara (dalam botol inkubasi tidak boleh terdapat gelembung).
- 6. Dimasukkan botol inkubasi ke dalam inkubator pada suhu $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari.
- 7. Setelah 5 hari botol inkubasi dikeluarkan, kemudian dibiarkan hingga suhu kamar.
- 8. Dianalisis konsentrasi DO 5 hari dengan DO meter kemudian dicatat hasil pembacaannya.

4) Analisis Contoh Uji

a. Tanpa Pengenceran

- Kocok contoh uji air, masukkan contoh uji ke dalam botol inkubasi.
- 2. Analisis konsentrasi DO 0 hari dengan DO meter, kemudian dicatat hasil pembacaannya.
- 3. Setelah selesai dianalisis, ditambahkan contoh uji air hingga penuh (meluber) kemudian tutup dengan hati-hati supaya tidak ada gelembung udara (dalam botol inkubasi tidak boleh terdapat gelembung).
- 4. Dimasukkan botol inkubasi kedalam inkubator pada suhu 20°C ± 1°C selama 5 hari.
- 5. Setelah 5 hari botol inkubasi dikeluarkan, kemudian dibiarkan hingga suhu kamar.
- 6. Dianalisis konsentrasi DO 5 hari dengan DO meter, kemudian dicatat hasil pembacaannya.

b. Menggunakan Pengenceran

- Dimasukkan sejumlah volume contoh uji air ke dalam gelas ukur
 250 ml (volume standart tergantung dari pengencerannya).
- 2. Ditambahkan air pengencer hingga 150 ml.
- 3. Diaduk hingga homogen, kemudian dituangkan pada botol inkubasi yang bervolume \pm 100 ml sampai penuh.
- 4. Analisis konsentrasi DO 0 hari dengan DO meter, kemudian

- dicatat hasil pembacaannya.
- 5. Setelah selesai dianalisis, ditambahkan contoh uji air yang telah diencerkan hingga penuh (meluber) kemudian tutup dengan hatihati supaya tidak ada gelembung udara (dalam botol inkubasi tidak boleh terdapat gelembung).
- Dimasukkan botol inkubasi ke dalam inkubator pada suhu 20°C
 ± 1°C selama 5 hari.
- 7. Setelah 5 hari botol inkubasi dikeluarkan, kemudian dibiarkan hingga suhu kamar.
- 8. Dianalisis konsentrasi DO 5 hari dengan DO meter, kemudian dicatat hasil pembacaannya.

3.6.4. COD (Chemichal Oxygen Demand) mengacu pada SNI 6989.2.2009

1) Pembuatan Larutan Induk COD 500 mgO2/L

- 1. Timbang ± 425 mg Kalium Hydrogen Ptalat (HOOC₆H₄COOK) yang telah dipanaskan pada temperatur $\pm 110^{\circ}$ C.
- 2. Dilarutkan dalam labu ukur 1000 ml dengan air suling hingga tanda batas, diikocok hingga homogen.

2) Pembuatan Larutan Standart

- Dari larutan induk COD 500 mg O2/L dipipet 0,25 ml; 0,5 ml; 0,75; 1 ml; 1.25 ml; 1.5 ml; 1,75 ml; 2 ml; 2,25 ml; 2,5 ml; 2,75 ml; dan 3 ml kemudian dimasukan masing-masing pada labu takar 50 ml.
- 2. Ditambahkan air suling hingga tanda batas dan dihomogenkan.
- 3. Sehingga diperoleh larutan standar dengan konsentrasi 2,5 ; 10 ; 17.5 ; 25 ; 32.5 ; 40 ; 47,5 ; 55 ; 52,5 ; 70 ; 77,5 ; dan 85 mgO2/L.

3) Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standart

- 1. Pipet 2,5 ml masing-masing larutan standart COD ke dalam tabung COD, lalu ditambahkan larutan campuran 1,5 ml $K_2Cr_2O_7 HgSO_4 \pm 0,02$ N dan 3,5 ml H_2SO_4 pekat $-Ag_2SO_4$.
- 2. Tutup tabung lalu dikocok

- 3. Dilakukan juga untuk blanko dengan memipet 2,5 ml air suling, 1,5 ml $K_2Cr_2O_7 HgSO_4 \pm 0,02$ N dan 3,5 ml H_2SO_4 pekat $-Ag_2SO_4$.
- 4. Dimasukan ke dalam reactor COD yang sebelumnya telah dipanaskan pada temperature ± 150 °C (10 20 menit).
- 5. Ditunggu hingga ± 2 jam.
- 6. Didinginkan pada suhu kamar.
- 7. Diukur konsentrasinya dengan spektrofotometri UV-VIS pada Panjang gelombang 444 nm.
- 8. Absorbansi yang didapatkan digunakan untuk membuat kuva kalibrasi Y = Ax + B.

4) Pelaksanaan Analisis Contoh Uji Air

a. Pelaksanaan Contoh Uji Air:

- 1. Dilakukan Analisis contoh uji air segera, kocok dengan kuat terutama yang mengandung suspensi tinggi.
- 2. Dipipet contoh uji air sebanyak 1,5 ml dimasukan ke dalam tabung mikro COD, ditambahkan 1,5 ml $K_2Cr_2O_7 HgSO_4 \pm 0,02$ N dan 3,5 ml H_2SO_4 pekat $-Ag_2SO_4$ dan dikocok.
- 3. Dipanaskan pada reactor COD pada temperature \pm 150°C dan ditunggu \pm 2 jam.
- 4. Didinginkan pada suhu kamar dan diukur konsentrasinya dengan Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 444 nm.

b. Pelaksanaan Uji larutan Blanko

- 1. Dipipet air suling sebanyak 1,5 ml dimasukan ke dalam tabung mikro COD , ditambahakan 1,5 ml $K_2Cr_2O_7-HgSO_4\pm0,02$ N dan 3,5 ml H_2SO_4 pekat $-Ag_2SO_4$ dan dikocok.
- 2. Dipanaskan pada reactor COD pada temperature \pm 150°C dan ditunggu \pm 2 jam.
- 3. Didinginkan pada suhu kamar dan diukur konsentrasinya dengan Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 444 nm.

c. Pelaksanaan Uji larutan standar

- 1. Dipipet masing-masing variasi larutan standar sebanyak 1,5 ml dimasukan ke dalam tabung mikro COD, ditambahkan ,5 ml $K_2Cr_2O_7-HgSO_4\pm0,02\ N\ dan\ 3,5\ ml\ H_2SO_4\ pekat-Ag_2SO_4\ dan\ dikocok.$
- 2. Dipanaskan pada reactor COD pada temperature $\pm 1~50^{\circ}\text{C}$ dan ditunggu $\pm 2~\text{jam}$.
- 3. Didinginkan pada suhu kamar dan diukur konsentrasinya dengan Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 444 nm.

3.6.5. Coli Tinja (Escherichia coli) mengacu pada QI/LKA/53 (tabung ganda)

1) Pembuatan media:

a. Pembuatan media LB 1:

- 1. Menimbang media LB sebanyak 13 gram
- 2. Menambahkan aquadest sampai 1000 ml
- 3. Melarutkan diatas hot plate dengan bantuan magnetic stirrer
- 4. Memipet sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham, lalu disterilkan dengan autoklaf.

b. Pembuatan media LB 3:

- 1. Menimbang media LB sebanyak 39 gram
- 2. Menambahkan aquadest sampai 1000 ml
- 3. Melarutkan diatas hot plate dengan bantuan magnetic stirrer
- 4. Memipet sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham
- 5. Mensterilkan dengan autoclave

c. Pembuatan media BGLB:

- 1. Menimbang media BGLB sebanyak 40 gram
- 2. Menambahkan aquadest sampai 1000 ml
- 3. Melarutkan diatas hot plate dengan bantuan magnetic stirrer
- 4. Memipet sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham

- 5. Mensterilkan dengan autoclave
- 6. Memasukkan dalam kulkas

d. Pembuatan media EC Broth:

- 1. Menimbang media EC Broth sebanyak 37 gram
- 2. Menambahkan aquadest sampai 1000 ml
- 3. Melarutkan diatas hot plate dengan bantuan magnetic stirrer
- 4. Memipet sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham
- 5. Mensterilkan dengan autoclave
- 6. Memasukkan dalam kulkas

2) Melakukan uji pendahuluan

a. Langkah kerja uji pendahuluan metode 5.5.5

- Menata media LB dalam rak tabung dengan susunan baris pertama (LB 3) sebanyak 5 tabung, baris kedua dan ketiga (LB 1) masingmasing sebanyak 5 tabung.
- 2. Memberi label berisi kode sampel dan volume sampel yang akan dimasukkan pada salah satu tabung disetiap barisnya.
- 3. Memfiksasi pipet ukur dan leher botol sampel diatas pembakar alkohol.
- 4. Memipet sampel sebanyak 11,1 ml.
- 5. Membuka tutup tabung pertama baris ketiga dan memfiksasi, kemudian memasukkan 0,1 ml sampel kedalamnya dan memfiksasi kembali sebelum menutup tabung.
- 6. Membuka tutup tabung pertama baris kedua dan memfiksasi, kemudian memasukkan 1 ml sampel kedalamnya dan memfiksasi kembali sebelum menutup tabung.
- 7. Membuka tutup tabung pertama baris pertama dan memfiksasi, kemudian memasukkan 10 ml sampel kedalamnya dan memfiksasi kembali sebelum menutup tabung.
- 8. Mengulangi langkah 4 sampai 6 pada tabung selanjutnya dengan urutan yang sama.

- Mengambil 5 tabung pada baris pertama kemudian mengikat dan membalik tabung dan dikocok perlahan agar tidak ada gelembung dalam tabung durham.
- 10. Mengulangi langkah 8 untuk baris kedua dan ketiga.
- 11. Memasukkan tabung tadi kedalam incubator selama 2x24 jam pada suhu 35-37°C.

3) Langkah kerja uji penegasan:

a. Menyeleksi sampel yang akan diuji.

- 1. Memilih sampel yang terdapat gelembung gas lebih dari setengah tabung durham.
- 2. Jika gelembung gas pada tabung durham hanya terdapat setengahnya saja maka cek pH. pH dibawah 5,5 berarti positif mengandung mikroba.
- 3. Jika tidak terdapat gelembung gas pada tabung durham maka lihat kekeruhan pada sampel. Bila sampelnya keruh dan terdapat endapan maka sampel tersebut positif.
- 4. Jika warna sampel berubah maka positif terdapat mikroba.
- 5. Jika terdapat lendir pada sampel maka sampel tersebut positif mengandung mikroba.

4) Uji penegasan EC:

- 1. Menata media EC Broth sesuai dengan susunan dan jumlah tabung berisi media LB yang positif mengandung mikroba.
- 2. Memberi label yang sama dengan tabung yang positif
- 3. Memanaskan jarum ose diatas pembakar alkohol sampai merah, kemudian diangin-anginkan sebentar.
- 4. Memfiksasi tabung yang positif kemudian memasukkan jarum ose sampai terdapat gelembung pada lubang jarum ose, usahakan gelembung tidak pecah terlebih dahulu sebelum ditanam ke media EC.
- 5. Menanam mikroba kedalam media EC dengan cara dikocok dan usahakan jarum ose tidak menempel pada dinding tabung.
- 6. Mengulangi langkah 3 sampai 5 untuk sampel lainnya.
- 7. Menggoyangkan tabung secara perlahan

8. digabungkan sesuai baris, kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 42°C.

5) Melakukan pembacaan

- a. Memilah hasil dari uji penegasan yang positif terdapat mikroba dengan cara:
 - 1. Memilih sampel yang terdapat gelembung gas lebih dari setengah tabung durham.
 - 2. Jika gelembung gas pada tabung durham hanya terdapat setengahnya saja maka cek pH. pH dibawah 5,5 berarti positif mengandung mikroba.
 - 3. Jika tidak terdapat gelembung gas pada tabung durham maka lihat kekeruhan pada sampel. Bila sampelnya keruh dan terdapat endapan maka sampel tersebut positif.
 - 4. Jika warna sampel berubah maka positif terdapat mikroba.
 - 5. Jika terdapat lendir pada sampel maka sampel tersebut positif mengandung mikroba.
 - 6. Menghitung jumlah sampel yang positif terdapat mikroba sesuai dengan metode yang digunakan.
 - Mencocokan hasil pengamatan dengan table MPN sesuai dengan metode sehingga diperoleh jumlah bakteri total coliform MPN/100 ml.

6) Rumus Perhitungan:

1. Apabila hasil yang positif ada dalam table MPN,maka hasil akhirnya dihitung dengan rumus sebagai berikut:

Total bakteri coliform = Indeks JPT
$$\left[\frac{10}{Y}\right]$$
 (MPN/100 ml)

Keterangan:

 $Indeks\ MPN = Nilai\ yang\ diambil\ dari\ table\ MPN$

Y = Volume benda uji terbesar (pengenceran terkecil)

2. Apabila hasil yang positif tidak ada dalam tabel MPN,maka hasil akhirnay dihitung dengan rumus Thomas:

Total bakteri coliform =
$$\frac{A \times 100}{\sqrt{B \times C}}$$

Keterangan:

A = Jumlah tabung positif pada uji pengenceran

 $B = Volume \ contoh \ uji \ dalam \ tabung \ yang \ negative \ pada \ uji \ penegasan$ (ml)

C = Volume contoh uji dalam semua tabung pada uji penegasan (ml)