

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan melakukan identifikasi *Salmonella sp.* pada telur ayam kampung yang dijual di pasar tradisional di Kota Malang. Sampel dalam penelitian ini adalah telur ayam kampung, pengambilan sampel dilakukan di beberapa pasar yang berada di Kota Malang. Sampel kemudian di uji di Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang. Sampel diuji untuk memberikan gambaran tentang obyek yang diteliti yaitu telur ayam kampung yang dijual di pasar tradisional Kota Malang untuk mengidentifikasi ada atau tidak adanya *Salmonella sp.* sehingga diperoleh data hasil penelitian yang dapat diambil kesimpulan secara umum.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2024 dengan tempat penelitian:

1. Pasar tradisional Oro-Oro Dowo, pasar tradisional Tawangmangu, pasar tradisional Kasin, pasar tradisional Mergan, dan pasar tradisional Blimbing untuk pengambilan sampel berupa telur ayam kampung
2. Laboratorium terpadu Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk identifikasi *Salmonella sp.*

3.3. Bahan dan Alat

3.3.1. Bahan

Sampel yang digunakan adalah telur ayam kampung, Media yang digunakan pada uji *Salmonella sp.* yaitu *Salmonella Shigella* Agar (Himedia), *Triple Sugar Iron* Agar (Himedia), *Lactose Broth* (Himedia), *Trypticase Soy Broth* (Himedia), *Sulfide Indol Motility* (Himedia), *Simmon Citrate* Agar (Himedia), *Methyl Red-Voges Proskeur* (Himedia), reagen yang digunakan adalah larutan Methyl Merah, Alpha naftol, pereaksi KOH 40%, reagen Kovacs, Alkohol 70%, Aquadest, Kristal Violet, Lugol, Safranin, spirtus, minyak Imersi, alumunium foil, tissue optic, tissue

3.3.2. Alat

Alat yang digunakan pada uji identifikasi *Salmonella sp.* yaitu Neraca analitik, sendok kutip, kaca arloji, hotplate, magnetic stirrer, erlenmayer 250ml (Duran), erlenmayer 100ml (Iwaki), beaker glass 500ml (Schott), tabung reaksi 10ml (Pyrex), rak tabung reaksi, cawan petri 10ml (Anumbra), batang pengaduk, *disposable srynge* 5ml, vortex, pipet tetes, pipet volume 10ml, mikropipet, bluetip, botol semprot, bunsen, pemantik api, kawat ose lurus dan bulat, *colony counter*, *Laminar Air Flow*, *chiller*, mikroskop, kaca preparat, rak pewarnaan gram, autoclave, oven, inkubator

3.4. Populasi dan Sampel

3.4.1. Populasi

Populasi adalah sekelompok orang, kejadian, peristiwa, atau benda yang dijadikan target kesimpulan dari akhir suatu objek penelitian. Populasi dalam penelitian ini adalah telur ayam kampung yang dijual di Pasar Tradisional dengan jumlah 5 pasar di Kota Malang.

3.4.2. Sampel

Sampel adalah bagian populasi yang akan dijadikan subjek penelitian, sampel telur ayam kampung yang digunakan dalam penelitian sebanyak 10 sampel. Tiap-tiap pasar akan diambil sebanyak 2 telur ayam kampung.

3.5. Variable Penelitian

3.5.1. Variable tunggal (Independent variable)

Variable adalah objek penelitian yang menjadi titik perhatian suatu penelitian atau yang menjadi perhatian dalam suatu penelitian. Penelitian ini menggunakan variable tunggal. Variable tunggal hanya membahas satu variable saja. (Turang, Golung, & Pasoreh, 2023). Berdasarkan pengertian diatas maka variable penelitian ini adalah *Salmonella sp.*

3.6. Definisi Operasional Prosedur

Tabel 3.1 Definisi operasional prosedur

Variable	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Fisik telur ayam kampung	Mengamati Kondisi Kerabang, putih telur, kuning telur.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pengamatan kondisi kerabang 2. Pengamatan kondisi putih telur 3. Pengamatan kondisi kuning telur 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Bentuk, warna, kondisi dan kebersihan kerabang 2. Kebersihan dan kekentalan putih telur 3. Bentuk, posisi, dan kebersihan 	Kategorik
<i>Salmonella sp.</i> Pada telur ayam	Mengidentifikasi adanya <i>Salmonella sp.</i> pada telur ayam yang dijual oleh pedagang pasar tradisional di Kota Malang	<ol style="list-style-type: none"> 1. Media SSA 2. Uji TSIA 3. Uji IMViC 4. Pewarnaan Gram 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Koloni tidak berwarna dengan titik hitam ditengah 2. Terjadi perubahan warna pada dasar TSIA menjadi berwarna kuning, pada agar miringnya 	kategorik

			<p>tetap berwarna merah.</p> <p>3. Hasil negatif pada uji indol dan VP, dan hasil positif pada uji MR dan sitrat</p> <p>4. Sifat gram negatif berbentuk batang.</p>	
--	--	--	---	--

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Sterilisasi alat dan bahan

Sebelum dilakukan identifikasi *Salmonella sp* terlebih dahulu dilakukan sterilisasi alat yang dilakukan dengan menggunakan oven. Adapun cara mensterilkan alat menggunakan oven adalah dengan memasukkan alat ke dalam oven dengan cara membukakan oven dengan menarik gagang pintu oven, lalu alat yang sebelumnya sudah ditutup dengan kapas penyumbat dan aluminium foil dimasukkan dalam oven dengan ditata secara merata diseluruh ruang oven, setelah itu dipastikan tidak menempatkannya terlalu dekat dengan dinding agar distribusi suhu seragam, tidak boleh memasukkan bahan mudah terbakar, mudah meleleh seperti bahan yang terbuat dari karet atau plastik ke dalam oven, setelah itu tutup kembali oven dengan cara menarik gagang pintu oven lalu pintu oven ditempelkan ke badan oven dan gagang oven ditekan untuk mengunci.

Setelah alat dimasukkan kedalam oven tahap selanjutnya adalah menghidupkan oven dengan cara menghubungkan sakelar ke sumber listrik, dan ditunggu beberapa saat hingga perangkat oven terhubung yang ditandai dengan adanya bunyi dari oven. Tombol power ditekan selama dua detik untuk menyalakan oven, lalu di display muncul tulisan "initial system". Tunggu beberapa saat hingga system siap bekerja yang ditandai dengan hilangnya tulisan "initial system" di display. Display akan menyala dan suhu saat ini akan muncul di panel tampilan suhu. Setelah suhu mencapai 170 °C, di tunggu selama 1 setengah jam lalu matikan oven dan ditunggu suhu ovennya sampai menurun, dan alat yang telah disterilkan dikeluarkan, dipindahkan ke baki kerja.

Selanjutnya sterilisasi bahan dilakukan di autoklaf. Sterilisasi menggunakan autoklaf digunakan suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm. Langkah pertama yang dilakukan adalah membungkus bahan yang akan digunakan menggunakan aluminium foil. Sebelum memasukkan bahan kedalam autoklaf pastikan lempeng heater didalam autoklaf terendam dengan aquadest, apabila belum terendam maka tambahkan aquadest secukupnya sampai lempeng heater terendam. Setelah itu bahan yang akan disterilkan dimasukkan ke dalam keranjang yang ada dalam autoklaf, tutup kembali autoklaf, pastikan selang yang tersambung dengan tutup autoklaf masuk kedalam lubang tempat selang dan putar pengunci untuk mengunci autoklaf, pastikan terkunci hingga pengait pada tutup terkait dengan badan autoklaf dengan sempurna kemudian saluran pembuangan uap ditutup agar uap tidak keluar. Autoklaf disambungkan dengan aliran listrik, lalu alat akan menyala dan dipastikan telah sesuai dengan suhu dan waktu yang akan digunakan yaitu 121 °C selama 15 menit, lalu tekan enter (tombol ent). Setelah itu suhu akan naik dengan sendirinya dan setelah 15 menit autoklaf akan berbunyi.

Setelah autoklaf berbunyi stopkontak dicabut dari aliran listrik, dan ditunggu sampai tekanan berada di bawah 0,1 atm. Setelah tekanan berada dibawah 0,1 atm saluran pembuangan uap dibuka agar uap panas keluar dan ditunggu sampai tekanan berada di angka 0. Setelah tekanan berada di angka

0, buka tutup autoklaf dan keluarkan bahan yang telah disterilisasi dan ditunggu hingga dingin. Apabila bahan yang disterilkan adalah bahan yang terbuat dari karet seperti blue tip, simpan bluetip di baki kerja, dan apabila bahan yang digunakan berupa media, ditunggu sampai suhunya menurun dan simpan kedalam chiller apabila belum digunakan.

3.7.2. Pembuatan media LB (*Lactose Broth*)

Pada proses pembuatan media LB dilakukan penimbangan media sebanyak 6,5027 gram dan melarutkannya didalam 500 ml aquadest. Setelah itu larutan dilarutkan menggunakan hotplate sampai larut dan mendidih. Setelah mendidih larutan dituangkan kedalam erlenmayer lalu mulut erlenmayer ditutup menggunakan kapas dan ditutup dengan alumunium foil untuk di sterilisasi. Perlakuan ini dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Setelah proses sterilisasi selesai, tuangkan 45 ml larutan kedalam erlenmayer 100 ml yang sudah di sterilisasi lalu tutup erlenmayer menggunakan kapas dan alumunium foil. Perlakuan ini dilakukan didalam LAF/BSC yang sudah disterilkan dengan disinari menggunakan sinar UV selama 15-30 menit lalu dibersihkan secara aseptik menggunakan alkohol dan tissue karena media sudah disterilkan.

3.7.3. Pembuatan media TSB (*Trypticase Soy Broth*)

Media TSB dibuat dengan cara media TSB ditimbang sebanyak 3,0090 gram dan dilarutkan ke dalam 100 ml aquadest lalu dipanaskan dengan menggunakan hotplate sampai larut sambil di aduk hingga homogen dan mendidih. Setelah mendidih larutan dituangkan ke dalam erlenmayer dan mulut erlenmayer ditutup kapas dan alumunium foil untuk di steriisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah selesai di sterilisasi, media TSB dituang ke dalam 10 tabung reaksi masing-masing sebanyak (4 ml) lalu tabung reaksi ditutup menggunakan kapas. Perlakuan ini dilakukan dalam LAF/BSC yang sudah disterilkan dengan menyinari menggunakan sinar UV selama 15-30 menit lalu dibersihkan secara aseptis menggunakan alkohol dan tissue karena media yang digunakan telah disterilkan

3.7.4. Pembuatan media SSA (*Salmonella Shigella Agar*)

Media dibuat dengan cara menimbang 12,65 gram dan melarutkannya kedalam 200 ml aquadest. Larutan dipanaskan menggunakan hotplate sampai larut dan mendidih. Proses mendidihkan ini sekaligus menjadi proses sterilisasi media karena media SSA tidak boleh di autoklaf atau mengalami overheating. Setelah mendidih, media sesegera mungkin dituang ke dalam cawan petri sebelum media menjadi agar. Saat selesai menuangkan media dan tutup cawan dibuka sedikit untuk pertukaran udara agar media tidak mengembun lalu didiamkan sampai menjadi agar. Perlakuan ini dilakukan dalam LAF/BSC yang sudah disterilkan dengan menyinari menggunakan sinar UV selama 15-30 menit lalu dibersihkan secara aseptis menggunakan alkohol dan tissue agar tidak terjadi kontaminasi bakteri.

3.7.5. Pembuatan media TSIA (*Tripe Sugar Iron Agar*)

Pada pembuatan media TSIA ditimbang sebanyak 6,452 gram dalam wadah erlenmayer 250 ml yang sudah diberi label lalu dilarutkan dengan 100 ml aquadest. Panaskan diatas hotplate sembari di aduk sampai agar mendidih dan warnanya jernih. Setelah larut media disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah itu diamkan media sampai suhu mencapai 50-40 °C kemudian dipipet kedalam tabung reaksi sebanyak 5 ml dengan tidak aseptik, dan dimiringkan sampai menjadi agar.

3.7.6. Pembuatan media SIM (*Sulfide Indol Motility*)

Tahap awal yang dilakukan adalah pembuatan media agar SIM yang dilakukan dengan cara bubuk SIM ditimbang sebanyak 3,6078 gram lalu dilarutkan ke dalam 100 ml aquadest. Larutan dipanaskan menggunakan hotplate sampai larut sambil diaduk hingga homogen dan mendidih. Setelah mendidih larutan dituangkan ke dalam erlenmayer lalu mulut erlenmayer ditutup sampai rapat menggunakan kapas dan ditutup dengan aluminium foil untuk di sterilisasi. Perlakuan ini dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi selesai, tuang larutan media tersebut kedalam tabung reaksi lalu tutup mulut tabung raksi dengan kapas penyumbat. Perlakuan ini dilakukan

dalam LAF/BSC karena media yang dituang sudah melalui proses sterilisasi sehingga tempat perlakuannya juga harus steril agar tidak ada kontaminan, dan tunggu media mengeras.

3.7.7. Pembuatan media MR-VP (*Methyl Red-Voges Proskauer*)

Media yang digunakan dalam uji MR-VP adalah media kaldu MR-VP yang dibuat dengan cara melarutkan media MR-VP sebanyak 3,4 gram dalam 200 ml aquadest. Larutan dipanaskan menggunakan hotplate sambil diaduk hingga homogen dan mendidih. Lalu larutan yang telah homogen dituang kedalam erlenmayer yang kemudian mulut erlenmayer ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil untuk disterilisasi. Perlakuan ini dilakukan dengan menggunakan autoklaf bersuhu 121 dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi media selesai, larutan media tersebut dituang kedalam tabung reaksi sebanyak 10 ml lalu tabung ditutup dengan kapas penyumbat. Perlakuan dilakukan di dalam LAF/BSC yang sudah disterilkan karena media yang dituang sudah melalui proses sterilisasi sehingga tempat perlakuannya juga harus steril. Adapun cara mensterilkan LAF/BSC adalah dengan menyalakan lampu UV selama 15-30 menit terlebih dahulu sebelum digunakan, lalu setelah itu LAF/BSC dibersihkan secara aseptis menggunakan alkohol dan tissue

3.7.8. Pembuatan media SCA (*Simmon Citrate Agar*)

Pembuatan *Simmon Citrate Agar* dilakukan dengan melarutkan 4,856 gram medium simmon citrate agar ke dalam 200 ml aquadest. Larutan dipanaskan menggunakan hotplate sambil diaduk hingga homogen. Setelah homogen, langkah selanjutnya adalah menuang larutan ke dalam erlenmayer lalu tutup mulut erlenmayer menggunakan kapas dan aluminium foil untuk dilakukan sterilisasi media. Perlakuan dilakukan menggunakan autoklaf bersuhu 121 derajat selcius dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi media selesai, larutan dituang kedalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 5ml, lalu mulut tabung reaksi ditutup dengan menggunakan kapas penyumbat. Kemudian tabung reaksi dimiringkan dan ditunggu sampai medium memadat sempurna.

Perlakuan ini dilakukan dalam LAF/BSC karena media yang dituang sudah melalui proses sterilisasi sehingga tempat perlakuannya juga harus steril.

3.7.9. Pra-pengkayaan (Yuswati, 2017)

Pada pra-pengkayaan digunakan media LB (*Lactose Broth*). Tahap awal yang digunakan adalah pembuatan media LB. Setelah selesai membuat media LB, tahap selanjutnya adalah melakukan tahap pra-pengkayaan dengan cara mengambil 5 ml sampel menggunakan dispo dan dimasukkan kedalam erlenmayer yang berisi larutan LB. Setiap sampel menggunakan dispo yang berbeda agar tidak mempengaruhi hasil akhir. Perlakuan tersebut dilakukan didalam LAF/ BSC agar tidak terjadi kontaminasi. Setelah sampel dimasukkan, erlenmayer diberi label dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C dalam inkubator.

3.7.10. Pengkayaan (Yuswati, 2017)

Pada tahap pengkayaan bakteri digunakan media TSB (Trypticase Soy Broth). Tahap pengkayaan dilakukan dengan cara memipet 1 ml media pra-pengkayaan yang telah diinkubasi menggunakan mikropipet dan memasukkannya ke dalam media TSB lalu dikocok hingga homogen. Perlakuan ini dilakukan dalam LAF/BSC yang sudah disterilkan dengan menyinari menggunakan sinar UV selama 15-30 menit lalu dibersihkan secara aseptis menggunakan alkohol dan tissue agar tidak terjadi kontaminasi bakteri dan mempengaruhi hasil akhir. Setelah selesai tabung reaksi diberi label dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C dalam inkubator.

3.7.11. Isolasi dan identifikasi (Yuswati, 2017)

Pada identifikasi dan isolasi bakteri digunakan media SSA (*Salmonella* dan *Shigella* Agar). Setelah media menjadi agar, tahap selanjutnya adalah menginokulasi biakan bakteri dari tahap pengkayaan. Adapun alat yang digunakan adalah ose bulat, bunsen, pemantik api dan LAF/BSC. LAF/BSC disterilkan dengan menyinari LAF/BSC menggunakan sinar UV selama 15-30menit lalu dibersihkan secara aseptis menggunakan alkohol dan tissue. Alat dan bahan disiapkan didalam

LAF/BSC, setelah itu ose bulat disterilkan terlebih dahulu dengan cara membakar kawat ose sampai kemerahan, lalu dicelupkan kedalam alkohol. Biakan bakteri diinokulasi dengan teknik spread (sebar). Biakan diambil menggunakan ose yang sebelumnya sudah dilewat-lewatkan dulu diatas bunsen lalu disebar di dalam cawan dengan membentuk 3 kuadran. Setelah selesai menginokulasi, cawan petri ditutup dan dibalikkan, lalu dilanjutkan dengan menginokulasi sampel lainnya. Setelah semua sampel selesai, cawan petri diberi label dan dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

3.7.12. Uji Biokimia

3.7.12.1. Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Prosedur kerja yaitu koloni yang tumbuh pada media SSA diinokulasikan ke dalam media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dengan cara menggoreskan bagian miringnya dan menusuk bagian tegaknya, menginkubasikan pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam, pada bagian tegaknya *Salmonella* akan memfermentasikan glukosa, warna media berubah dari ungu menjadi kuning, dapat membentuk gas H₂S, warna media berubah dari ungu menjadi hitam. Sedangkan pada bagian miring *Salmonella* akan memfermentasikan laktosa atau sukrosa, warna media menjadi kuning

3.7.12.2. Uji Indol

Pada uji indol digunakan media agar SIM dengan cara menginokulasikan koloni yang tumbuh pada media SSA. Teknik yang digunakan dalam inokulasi pada uji indol adalah teknik tusuk karena media yang digunakan adalah media semi padat. Perlakuan ini juga dilakukan di dalam LAF/BSC yang sudah di sterilkan dengan sinar UV selama 15-30 menit sebelum digunakan, lalu dibersihkan secara aseptis menggunakan alkohol dan tissue.

Tahap selanjutnya adalah menginkubasi media yang telah diinokulasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah melewati masa inkubasi dilakukan penambahan pereaksi Kovac sebanyak 1-3 tetes lalu

dikocok. Setelah di tambahkan dengan reagen kovac, dilakukan pengamatan perubahan warna yang terjadi. Jika hasilnya positif maka akan timbul cincin merah pada permukaan media, jika hasilnya negatif maka akan timbul cincin kuning pada permukaan media.

3.7.12.3. Uji *Methyl Red-Voges-Proskauer* (VP)

Pada uji MR-VP dibedakan menjadi dua yaitu MR (*Methyl Red*) dan VP (*Voges-Proskauer*). Uji MR-VP dilakukan dengan cara menginokulasi koloni yang tumbuh pada media SSA. Biakan di inokulasi menggunakan ose bulat karena media yang digunakan adalah media agar. Perlakuan ini juga dilakukan didalam LAF/BSC yang sudah disterilkan. Tahap selanjutnya adalah menginkubasi media yang telah diinokulasi dalam inkubator selama 24-48 jam pada suhu 37 °C. Lalu setelah pengamatan ke 48 jam, pindahkan 5 ml media yang sudah melewati masa inkubasi tersebut kedalam tabung kosong.

Untuk uji *Methyl Red* (MR) tahap selanjutnya adalah menambahkan indikator *Methyl Red* sebanyak 5-6 tetes menggunakan pipet tetes pada media yang telah dipindahkan ketabung lain. Adapun penambahan indikator *Methyl Red*. Setelah ditambahkan indikator *Methyl Red*, kemudian dilakukan pengamatan perubahan warna yang terjadi jika positif maka akan terjadi perubahan warna menjadi merah, jika negatif tdaai terjadi perbahan warna.

Untuk uji *Voges-Proskauer* (VP) dilakukan penambahan reagen alpha naptol sebanyak 0,6 ml dan KOH 40% sebanyak 0,2 ml lalu dikocok. Dan diamati perubahan warna setelah penambahan pereaksi jika positif maka akan terjadi perubahan warna menjadi merah muda, jika negatif maka tidak terjadi perubahan warna media.

Adapun penambahan reaksi yang dilakukan pada uji MR-VP dilakukan dalam LAF/BSC yang sudah disterilkan dengan cara menyinari LAF/BSC dengan sinar UV selama 15-30 menit, lalu di bersihkan secara aseptik menggunakan alkohol dan tissue. Penambahan reaksi dilakukan dalam LAF/BSC untuk mencegah adanya kontaminan yang dapat mempengaruhi hasil uji MR-VP

3.7.12.4. Uji Sitrat

Tahap awal untuk uji sitrat adalah dilakukan inokulasi biakan yang tumbuh pada media SSA. Teknik yang digunakan dalam inokulasi pada uji sitrat adalah teknik gores karena media yang digunakan adalah media agar miring. Perlakuan dilakukan dalam LAF/BSC yang sudah disterilkan terlebih dahulu dengan menyalakan lampu UV selama 15-30 menit sebelum digunakan, lalu dibersihkan secara aseptis menggunakan alkohol dan tissue.

Tahap selanjutnya adalah menginkubasi media yang telah diinokulasi dalam inkubator selama 24-96 jam pada suhu 37 °C. Setelah melewati masa inkubasi dilakukan pengamatan pertumbuhan serta perubahan warna yang terjadi pada media setiap biakan jika positif maka akan terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru, jika negatif maka tidak terjadi perubahan warna.

3.7.13. Pewarnaan gram

Setelah dilakukan identifikasi dan isolasi menggunakan media SSA, tahap selanjutnya dilanjutkan dengan pewarnaan gram. Koloni yang tumbuh diambil menggunakan ose bulat kemudian diletakkan pada kaca preparat untuk dilakukan amati menggunakan mikroskop. Adapun alat dan bahan yang digunakan adalah kaca preparat, rak pewarnaan gram, ose bulat, botol semprot, bunsen, reagen kristal violet, lugol iodine, alkohol 70%, safrannin, aquadest, dan biakan bakteri yang digunakan.

Tahap pertama yang dilakukan adalah membuat preparat apus dengan menyiapkan koloni bakteri yang akan dibuat apusannya. Kaca preparat yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu menggunakan tissue agar terbebas dari debu dan lemak yang menempel. Ose bulat disterilkan menggunakan bunsen dengan cara dipanaskan hingga memerah lalu dicelupkan kedalam alkohol. Karena koloni bakteri yang digunakan berasal dari media padat (agar), maka diletakkan 1 tetes aquadest diatas kaca preparat, lalu diambil sedikit bakteri dari koloni menggunakan ose bulat dan diratakan agar koloni tidak bertumpuk tidak merata. Setelah itu dilakukan fiksasi dengan melewati pada bunsen sebanyak 2-3 kali, dan tidak

melakukan pemanasan berlebihan, lalu preparat dikeringkan dengan di diamkan di udara bebas.

Tahap selanjutnya yang dilakukan adalah pewarnaan gram. Preparat apus diletakkan diatas rak pewarnaan, lalu kaca preparat digenangi dengan lartan kristal violet dan dibiarkan selama 30 detik. Lalu arutan kristal violet dibuang dan dibilas perlahan menggunakan aquadest dengan dialirkan pada sisi ujung slide. Lalu preparat apus digenangi kembali dengan arutan iodine dan dibiarkan selama 30 detik lalu dibilas kembali dengan aquadest. Lalu melakukan dekolorisasi dengan megalirkan etanol 70% pada apusan dari bagian ujung kaca preparat dengan waktu paling lama 30 detik tergantung ketebalan apusan, lalu dibilas kembali dengan aquadest. Setelah itu kaca preparat digenangis dengan safrannin dan dibiarkan selama 60 detik lalu dibilas menggunakan aquadest. Sisa air yang ada dikaca preparat di lap menggunakan tissue lalu preparat dibiarkan kering diudara bebas. Proses pewarnaan gram telah selesai dilakukan dan selanjutnya diamati menggunakan mikroskop

3.7.14. Pengamatan mikroskop

Setelah dilakukan pewarnaan gram tahap selanjutnya adalah pengamatan mkroskop. Mikroskop diambil dari almari dengan tangan sebagai penyangga lalu diletakkan diatas permukaan/meja yang datar, kering, dan bebas dari debu. Setelah itu mikroskop dihubungkan dengan aliran listrik. Selanjutnya mikroskop dihidupan dengan menekan tombol on/off. Kaca preparat ditetesi dengan minyak imersi lalu dipasang di meja preparat kemudian dijepit dengan penjepit yang ada di meja preparat. Setelah itu lensa diatur agar tampak bayangan jaringan/bakteri yang diamati. Jika sudah selesai melakukan pengamatan, kaca preparat diambil dan mikroskop diposisikan seperti di awal, lensa mikroskop dibersihkan menggunakan tissue khusus lensa mikroskop. Tahap terakhir mikroskop dimatikan dengan menekan tombol on/off dan stopkontak dicabut dari aliran listrik. Setelah itu mikroskop tutup menggunakan penutupnya dan dikembalikan ke lemari penyimpanan alat.

3.7.15. Destruksi media

Langkah terakhir adalah destruksi media dengan menggunakan autoklaf dan dilanjutkan dengan sterilisasi alat. Tahap pertama adalah menyiapkan media yang akan didestruksi dengan cara membungkus alat berisi media yang telah selesai digunakan dengan kapas dan kertas perkamen/aluminium foil lalu diikat menggunakan karet. Setelah itu aquadest dimasukkan kedalam autoklaf hingga lempeng hitter terendam, lalu autoklaf ditutup dan dikunci dengan memutar keempat pengunci dan autoklaf dipanaskan terlebih dahulu dengan cara menghubungkan stopkontak dengan aliran listrik lalu tekan tombol on berwarna hijau dan ditunggu hingga aquadest yang ada didalam autoklaf mendidih. Setelah aquadest mendidih penutup autoklaf dibuka dan bahan yang akan didestruksi dimasukkan kedalam keranjang autoklaf, dan dimasukkan ke dalam autoklaf. Penutup autoklaf ditutup kembali dan dikunci dengan memutar keempat pengunci dan menutup saluran pembuangan uap. Lalu tombol pengatur tekanan uap diputar ke angka 9 dan ditunggu hingga indikator tekanan sudah menunjukkan ke tekanan $1 \frac{1}{2}$. Lalu setelah tekanan berada di tekanan $1 \frac{1}{2}$, tekanan udara diturunkan dengan memutar tombol pengatur tekanan ke angka 4 lalu biarkan 15-30 menit. Setelah itu tombol pengatur tekanan diputar ke posisi off dan autoklaf dimatikan dengan menekan tombol on/off berwarna hijau dan sakelar dicabut. Selanjutnya saluran pembuangan uap dibuka secara perlahan dan dibiarkan hingga uap panas benar-benar habis. Setelah uap panas benar-benar habis autoklaf dibuka dengan memutar keempat pengunci ke dan bahan yang telah didestruksi dikeluarkan. Setelah bahan yang telah didestruksi dikeluarkan, sisa media dibuang di tempat pembuangan limbah dan alat begitu juga dengan autoklaf dan keranjang autoklaf yang telah digunakan dicuci menggunakan sabun lalu dikeringkan

3.8. Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Pada penelitian ini dilakukan pengolahan data untuk mengubah data mentah menjadi data yang dapat dijadikan informasi yang mudah dimengerti dan berguna. Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan

data berupa hasil uji fisik telur ayam, dan hasil isolasi dan identifikasi *Salmonella* sp pada telur ayam kampung.

3.8.1. Hasil uji fisik telur ayam kampung

Tabel 3 2. Hasil pengamatan kondisi kerabang

Sampel	Bentuk	Warna	Kondisi	Kebersihan

Tabel 3 3. Hasil pengamatan putih telur

Sampel	Kebersihan	Kekentalan

Tabel 3 4. Hasil pengamatan kuning telur

Sampel	Bentuk	Posisi	Kebersihan

3.8.2. Hasil isolasi dan identifikasi *Salmonella* sp.

Tabel 3 5. Hasil pengamatan pada media LB

Sampel	Sebelum inkubasi 24 jam	Setelah inkubasi 24 jam	Keterangan

Pada pengamatan yang dilakukan warna kuning keruh pada media menunjukkan bahwa terjadi pertumbuhan bakteri (Yuswati, 2017)

Tabel 3 6. Hasil pengamatan pada media TSB

Sampel	Sebelum Inkubasi 24 jam	Setelah inkubasi 24 jam	Keterangan

Pada pengamatan yang dilakukan warna kuning keruh pada media menunjukkan bahwa terjadi pertumbuhan bakteri (Yuswati, 2017)

Tabel 3 7. Hasil identifikasi *Salmonella* sp pada Media SSA

Sampel	Hasil pengamatan	Keterangan

Pada identifikasi *Salmonella* dengan media SSA hasil positif ditunjukkan dengan adanya koloni berwarna jernih dengan titik hitam (Yuswati, 2017)

Tabel 3 8. Hasil Uji Biokimia

Pengujian Biokimia	Hasil	Keterangan

Tabel 3 9. Pewarnaan Gram

Hasil pengamatan	Keterangan