

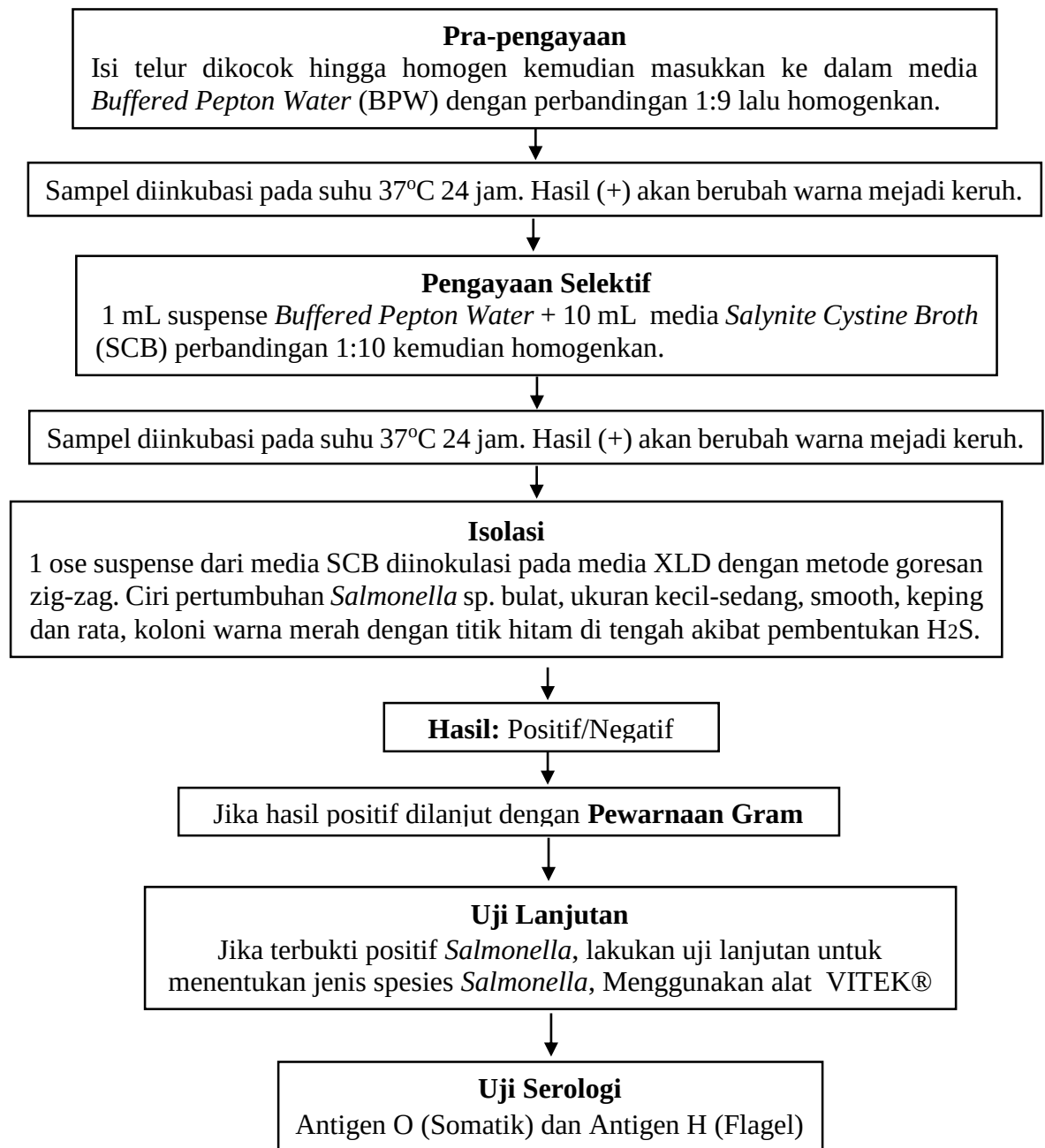
BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan analisis data deskriptif, dengan pendekatan cross-sectional. Data disajikan dalam bentuk table, gambar, dan uraian deskriptif. Analisis data deskriptif adalah teknik analisis yang digunakan untuk menggambarkan data yang telah dikumpulkan sebagaimana adanya tanpa bertujuan melakukan generalisasi. Pemeriksaan dilakukan satu kali pada setiap sampel melalui metode kultur dan uji lanjutan jenis spesies *Salmonella* metode analyzer mikroba menggunakan alat VITEK® dan dilanjutkan dengan uji serologi sebagai uji konfirmasi.

B. Alur Penelitian



Gambar 10. Alur Penelitian

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh telur ayam kampung yang dihasilkan dalam satu hari di peternakan. Berdasarkan hasil observasi, jumlah produksi rata-rata sebanyak 40 butir per hari.

2. Sampel

Penentuan jumlah sampel ditentukan berdasarkan rumus Slovin dengan tingkat kesalahan $\pm 19\%$, sehingga diperoleh jumlah sampel sebanyak 16 butir telur ayam kampung. Pengambilan sampel dilakukan secara 2x pengambilan, pengambilan pertama pada tanggal 28 Januari 2026 sebanyak 8 sampel. Setelah itu, telur di simpan selama 12 hari untuk memastikan bahwa sampel benar-benar dengan masa simpan 1-2 minggu, dan pengambilan kedua dilakukan pada tanggal 07 Februari 2026 sebanyak 8 sampel, disimpan hanya 2 hari untuk sampel dengan masa simpan $0 \leq 1$ minggu.

Kriteria inklusi: telur ayam kampung dalam kondisi utuh dan tidak retak, bersih, sampel berasal dari peternak langsung dengan masa simpan $0 \leq 1$ minggu dan 1–2 minggu. Kriteria eksklusi: telur yang retak atau pecah, telur dengan kontaminasi kotoran berlebihan pada cangkang.

D. Waktu dan Tempat

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Februari 2026.

2. Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di peternak telur ayam kampung Jl.Tata Bumi No.3, Area Sawah, Banyuraden, Gamping, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta dan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Yogyakarta.

E. Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan dua jenis variabel, yaitu:

1. Variabel Bebas

- a. Telur ayam kampung dari peternak langsung dengan masa simpan $0 \leq 1$ minggu dan 1-2 minggu.

2. Variabel Terikat

- a. Identifikasi bakteri *Salmonella* sp. pada telur ayam kampung.
- b. Identifikasi jenis spesies *salmonella* pada telur ayam kampung.

F. Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

Variabel		Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala Ukur
Bebas	Telur Ayam kampung yang di jual di peternakan dengan masa simpan 0–≤1 minggu dan 1-2 minggu	Telur ayam kampung yang berasal dari peternak “Kandang Amoeba” yang berlokasi di Jl.Tata Bumi No.3, Area Sawah, Banyuraden, Gamping, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, telur yang diambil dengan masa simpan 0–≤1 minggu dan 1-2 minggu	Observasi	Nominal
Terikat	Identifikasi Bakteri <i>Salmonella</i> sp.	Identifikasi dalam penelitian ini adalah dengan cara melihat perubahan kekeruhan yang terjadi pada media pra-pengayaan (BPW) dan media pengayaan (SCB), jika terjadi kekeruhan menandakan bahwa terjadinya pertumbuhan bakteri pada uji tersebut, selain itu juga melihat morfologi bakteri yang tumbuh pada media XLD. Dilanjutkan dengan pewarnaan gram untuk memastikan jenis gram dari bakteri tersebut.	Uji Pra-pengayaan, Uji Pengayaan, Uji Kultur dan Pewarnaan Gram	Nominal (Positif/Negatif)
Terikat	Identifikasi Jenis Spesies <i>Salmonella</i>	Identifikasi Jenis spesies atau serotipe <i>Salmonella</i> pada penelitian ini melalui pembacaan otomatis berbasis fluorometri terhadap 47-64 uji biokimia dalam kartu GN (Gram Negatif) VITEK® , dan dilanjutkan dengan uji serologi sebagai uji konfirmasi akhir.	VITEK® Compact dan Antisera O dan H	Nominal

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini penulis menggunakan data primer yang diperoleh dengan cara pemeriksaan secara langsung terhadap sampel isi telur ayam kampung di laboratorium, data diperoleh berupa hasil positif atau negatif *Salmonella* sp. dan spesies *salmonella* secara spesifik.

H. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

- a. Neraca analitik (1 unit)
- b. Laminar air flow (1 unit)
- c. Incubator (1 unit)
- d. Autoclave (1 unit)
- e. Erlenmeyer 500 ml (2 pcs)
- f. Botol vial kaca (16 pcs)
- g. Tabung reaksi (16 pcs)
- h. Cawan petri (16 pcs)
- i. Bunsen (1 pcs)
- j. Rak Tabung (1 pcs)
- k. Batang pengaduk (1 pcs)
- l. Mikropipet (1 pcs)
- m. Pipet Ukur (1 pcs)

2. Bahan Penelitian

- a. Telur Ayam Kampung (16 butir)
- b. *Buffered Peptone Water* (BPW) (16 media)

Komposisi Agar BPW Per Liter :

-Peptone 10 gram (sumber nutrisi dan nitrogen untuk regenerasi sel dan pertumbuhan bakteri).

-Natrium Klorida (NaCl) 5 gram (menstabilkan tekanan osmotik sel bakteri).

-Disodium Hydrogen Phosphate (Na_2HPO_4) 3,5 gram dan Potassium Hydrogen Phosphate (KH_2PO_4) 1,5 gram (menjaga kestabilan pH media).

c. *Salynite Cystine Broth* (SCB) (16 media)

Komposisi Agar SCB Per Liter :

-Peptone 5 gram (sumber nutrisi untuk regenerasi sel).

-Lactose 4 gram (sumber energy).

-Sodium Phosphate 10 gram (peyangga pH media).

-Sodium Hydrogen Selenite 4 gram (agen selektif yang menekan pertumbuhan bakteri non-target).

-L-cystine 0,01 gram (agen reduktor untuk memulihkan sel *Salmonella* cedera subletal).

d. *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) (16 media)

Komposisi Agar XLD Per Liter :

-Yeast Extract 3 gram (sumber nutrisi).

-L-lysine 5 gram (mendeteksi aktivitas dekarboksilasi lisin).

-Xylose 3,75 gram, Lactose dan Sucrose masing-masing 7,5 gram (sumber karbohidrat).

-Sodium Chloride 5 gram (menjaga keseimbangan osmotik).

-Sodium Deoxycholate 2,5 gram (penghambat bakteri Gram positif).

-Sodium Thiosulfate 6,8 gram dan Erric Ammonium Citrate 0,8 gram
(mendeteksi produksi hidrogen sulfida (H_2S)).

-Phenol Red 0,08 gram (indikator pH).

-Agar 13,5 gram (pemadat media).

- e. Aquadest steril (2 Liter)
- f. alkohol 70%
- g. Kapas steril (250 gram)
- h. Ose bulat steril (16 pcs)
- i. Yellow Tip (16 pcs)
- j. Blue Tip (16 pcs)
- k. Plastik 12x20 (16 lembar)
- l. Spidol (1 pcs)
- m. Labelling (1 lembar)

I. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan Penelitian

- a. Peneliti mengurus surat permohonan perizinan penelitian dan permohonan *Ethichal Clearance* di Administrasi Akademik dan Kemahasiswaan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang dimana akan diserahkan kepada pihak Diklat Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Yogyakarta.
- b. Peneliti mengurus surat perizinan penelitian dan *Ethical Clearence* untuk melakukan penelitian di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Yogyakarta.
- c. Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan.
- d. Mempersiapkan Formulir Pencatatan Hasil Pemeriksaan.

2. Tahap Pelaksanaan Penelitian

- a. Pengambilan sampel telur ayam kampung dilakukan secara langsung di peternak sesuai dengan kriteria yang telah ditetapkan
- b. Telur dipisahkan satu per satu kedalam plastik, untuk meminimalisir kontaminasi antar telur.
- c. Sampel dibawa ke Laboratorium BB Labkesmas Yogyakarta, kemudian permukaan telur dibersihkan secara steril menggunakan kain bersih atau alkohol 70%.
- d. Melakukan pembuatan media *Buffered Pepton Water* (BPW) dan *Salynite Cystine Broth* (SCB).

- e. Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan.
- f. Selanjutnya dilakukan **uji pra-pengayaan** dengan cara isi telur dikocok hingga homogen menggunakan batang pengaduk steril, kemudian dimasukkan ke dalam media *Buffered Pepton Water* (BPW) dengan perbandingan 1:9 (1 mL sampel + 9 mL *Buffered Pepton Water*) lalu homogenkan.
- g. Sampel diinkubasi pada suhu 37 °C menggunakan inkubator selama 24 jam. Hasil dengan terbentuknya kekeruhan pada media, menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri (non-spesifik).
- h. Tahap berikutnya adalah **uji pengayaan selektif** menggunakan media *Salynite Cystine Broth* (SCB) dengan perbandingan 1:10 (1 mL suspensi dari media BPW kedalam 10 mL media SCB) kemudian homogenkan.
- i. Suspensi diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Hasil dengan terbentuknya kekeruhan pada media, menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp.
- j. **Isolasi bakteri** dilakukan pada media padat *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD) untuk menyeleksi koloni *Salmonella*. Sebanyak satu ose suspensi dari media SCB diinokulasi pada media XLD dengan metode goresan zig-zag.
- k. Media XLD diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, kemudian diamati pertumbuhan koloni yang terbentuk.
- l. Jika terjadi pertumbuhan, koloni yang diduga *Salmonella* sp. selanjutnya dilakukan **pewarnaan gram**. Apabila pengamatan mikroskopis menunjukkan

bakteri gram negatif berwarna merah dengan bentuk *basil* (batang), maka dilanjutkan uji lanjutan.

- m. **Uji Lanjutan** menggunakan alat VITEK® dengan kartu Gram Negative (GN) yang berisi berbagai substrat uji biokimia miniatur untuk mendeteksi fermentasi karbohidrat, aktivitas enzim, pemanfaatan substrat, dan reaksi metabolik.
- n. Ambil beberapa koloni murni dengan morfologi seragam dari media XLD dan dimasukkan ke dalam tabung VITEK® yang berisi larutan NaCl steril, kemudian dihomogenkan.
- o. Kekeruhan suspensi diukur menggunakan alat DensiCHEK hingga mencapai standar 0,50-0,63 McFarland.
- p. Selanjutnya kartu GN dipasang pada tabung VITEK®, dimasukkan ke dalam cassette, kemudian dimasukkan ke dalam alat VITEK® untuk proses analisis. Hasil identifikasi diperoleh dalam waktu 6-10 jam.
- q. Print hasil.
- r. Sampel yang menunjukkan hasil positif *Salmonella* sp. selanjutnya dilakukan **uji serologi**.
- s. **Uji Serologi** dilakukan sebagai uji konfirmasi identitas spesies *Salmonella* tersangka. Sebanyak 1-2 koloni murni disuspensikan ke dalam larutan NaCl fisiologis hingga kekeruhan menyerupai susu encer.
- t. Sebanyak satu tetes antisera O ditetaskan pada objek glass, kemudian ditambahkan satu tetes suspensi bakteri dan diaduk perlahan menggunakan ose steril, Aglutinasi diamati dalam waktu 1-2 menit.

- u. Apabila terbentuk aglutinasi pada antigen O, maka dilanjutkan dengan antisera antigen H.
- v. Teteskan 1 tetes antisera H diatas object glass baru, kemudian ditambahkan satu tetes suspensi bakteri, diaduk perlahan menggunakan ose steril, dan diamati aglutinasi dalam waktu 5-10 menit.
- w. Hasil uji dinyatakan positif *Salmonella* apabila terbentuk reaksi aglutinasi.

J. Manajemen Data

Manajemen data dilakukan melalui tahapan *editing, coding, tabulating*, dan analisis data. Data hasil pemeriksaan dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan uraian naratif mengenai keberadaan *Salmonella sp.* (positif atau negatif) dan jenis spesies *Salmonella*.

K. Etika Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh *Ethical Clearance* (EC) dengan No.DP.04.03/e-KEPK.1/358/2026 yang berlaku selama kurun waktu tanggal 25 Februari 2026 sampai dengan tanggal 25 februari 2027 dari Komite Etik Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta sebelum pelaksanaan penelitian. Selama proses penelitian, peneliti telah memperoleh izin pengambilan sampel, menerapkan prinsip Keselamatan dan Kesehatan Kerja (K3) di laboratorium, serta menjunjung tinggi kejujuran ilmiah dalam pelaporan hasil penelitian.