

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif yang bertujuan untuk menggambarkan kontaminasi *Salmonella* sp. pada mentega kiloan yang digunakan pedagang terang bulan di Jalan Pogot Surabaya.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi penelitian

Dalam penelitian ini yang menjadi populasi adalah para pedagang terang bulan di Jalan Pogot Surabaya yang menggunakan mentega kiloan sebagai bahan oles terang bulan sebelum disajikan. Jumlah keseluruhan populasi adalah 6 pedagang terang bulan.

3.2.2 Sampel penelitian

Sampel penelitian ini adalah Mentega kiloan yang digunakan pedagang terang bulan di Jalan Pogot Surabaya yang terdiri dari 6 pedagang yang setiap pedagang diambil 5 sampel, jadi total keseluruhan sampel adalah 30 sampel.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai dengan bulan Juli 2019, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan Mei 2019 di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medik Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel penelitian

Variabel penelitian adalah kontaminasi *Salmonella* sp. pada mentega kiloan yang digunakan pedagang terang bulan di Jalan Pogot Surabaya.

3.4.2 Definisi operasional variabel

Kontaminasi *Salmonella* sp. adalah ada tidaknya bakteri *Salmonella* sp. pada mentega yang telah diidentifikasi, dinyatakan dalam skala nominal. Yaitu :

A. Positif (+), Jika ada bakteri *Salmonella* sp.pada mentega

1. Dinyatakan positif (+) *Salmonella* sp.jika pada media SSA dilakukan pengamatan secara makroskopis menunjukkan ada pertumbuhan koloni dengan ciri koloni kecil, smooth, tak berwarna (bening) dengan inti hitam, permukaan cembung dengan tepian halus. Pada pengamatan koloni yang tumbuh secara mikroskopis menunjukkan bakteri gram negatif, batang/basil berwarna merah muda (Yunus dkk, 2017).
2. Dinyatakan positif (+) *Salmonella* sp. jika koloni pada media SSA dilakukan identifikasi lanjutan dengan media biokimia reaksi dan diperoleh hasil sukrosa dan laktosa tidak terfermentasi, manosa dan glukosa terbentuk asam dan terkadang dapat pula terbentuk gas (Jawetz, dkk, 2008). Pada maltosa dapat membentuk asam dan dapat pula terbentuk gas. Pada media TSIA (Triple Sugar Iron Agar) pada bagian miring/lereng berwarna merah karena tidak

memfermentasi sukrosa dan laktosa, pada bagian dasar/tegak berwarna kuning karena memfermentasi glukosa, serta dapat terbentuk H₂S dibuktikan dengan berubah warna menjadi hitam dan ada pula yang tidak terbentuk H₂S. Pada media semi solid/motil positif (+) karena *Salmonella* sp. dapat bergerak. Hasil negatif (-) pada indol, urea, Voges Proskauer (Radji dan Biomed, 2011). Pada uji Metil Red (MR) positif yaitu terbentuknya warna merah karena memfermentasi karbohidrat/glukosa (Harti, 2015)

B. Negatif (-), Jika tidak ada bakteri *Salmonella* sp. pada mentega

Dinyatakan negatif (-) *Salmonella* sp. Jika pada media SSA tidak ditumbuhi koloni atau tidak ditemukan koloni seperti pada ciri-ciri *Salmonella* sp. pada pengamatan makroskopis maupun mikroskopis, dan pada uji lanjutan dengan media Biokimia reaksi tidak ditemukan hasil uji seperti pada hasil uji (+) *Salmonella* sp.

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Data diperoleh dari hasil pemeriksaan pada sampel mentega yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.5.1 Pembuatan media

3.5.1.1 Alat

Pada pembuatan media alat yang digunakan meliputi Gelas Arloji, Neraca, Beaker Glass, Erlenmeyer, Kapas Kasa, Spatula, Tabung, Rak Tabung, Pipet tetes, Petri Disk, Kertas pH, Gelas ukur, Autoklaf, dan Hot Plate.

3.5.1.2 Bahan

Pada pembuatan media bahan yang diperlukan adalah Selenite Broth, *Salmonella Shigella* Agar (SSA), Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, Manosa, Water Pepton, Pepton from meat, K_2HPO_4 , Simons Citrat, Urea Agar, NaCl, Agar-agar, Triple Sugar Iron Agar (TSIA), HCl, NaOH, dan Aquadest.

3.5.1.3 Prosedur Pembuatan Media

Prosedur pembuatan media adalah sebagai berikut :

A. Selenite Broth (SB)

Menurut petunjuk pembuatan dari label bahan selenite broth produksi Merck KGaA. Cara pembuatannya adalah sebagai berikut :

1. Komposisi aslinya adalah melarutkan 23 gram bahan selenite dalam 1000 ml Aquadest. Namun untuk pemeriksaan 30 sampel hanya dibutuhkan 30 erlenmeyer selenite yang masing-masing berisi 225 ml selenite.

$$30 \text{ Erlenmeyer} \times 225 \text{ ml} = 6750 \text{ ml}$$

$$\frac{23 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 6750 \text{ ml} = 155,25 \text{ gram}$$

Jadi menimbang 155,25 gram dan melarutkannya ke dalam 6750 ml Aquadest. Seluruh alat dan aquadest yang digunakan harus dalam keadaan steril. Karena media selenite tidak boleh diautoklaf.

2. Memanaskan sampai mendidih pada hot plate, kemudian mematikan hot plate dan menunggu sampai hangat.

3. Mengukur pH media hingga sesuai dengan pH 7.0 ± 0.2 . Jika pH terlalu tinggi ditambah HCL dan jika pH terlalu rendah ditambah NaOH.
4. Kemudian menuanginya ke erlenmeyer. Setiap erlenmeyer berisi 225 ml media selenite. Setelah terisi erlenmeyer ditutup dengan kapas kasa.
5. Media Selenite siap digunakan.

B. *Salmonella Shigella* Agar (SSA)

Menurut petunjuk pembuatan dari label bahan SSA produksi Merck KGaA. Cara pembuatannya adalah sebagai berikut :

1. Komposisi aslinya adalah melarutkan 60 gram bahan SSA dalam 1000 ml Aquadest. Namun untuk pemeriksaan 30 sampel hanya dibutuhkan 30 plate SSA yang masing-masing berisi 15 ml SSA.

$$30 \text{ plate} \times 15 \text{ ml} = 450 \text{ ml}$$

$$\frac{60 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 450 \text{ ml} = 27 \text{ gram}$$

- Jadi menimbang 27 gram dan melarutkan ke dalam 450 ml Aquadest. Seluruh alat dan aquadest yang digunakan harus dalam keadaan steril. Karena media SSA tidak boleh diautoklaf.
2. Memanaskan sampai mendidih pada hot plate, kemudian mematikan hot plate dan menunggu sampai hangat.
 3. Mengukur pH media hingga sesuai dengan pH 7.0 ± 0.2 . Jika pH terlalu tinggi ditambah HCL dan jika pH terlalu rendah ditambah NaOH.

4. Kemudian menuanginya ke plate. Setiap plate berisi 15 ml media SSA.
5. Menunggu hingga media memadat sempurna.
6. Media SSA siap untuk digunakan.

C. Media Gula-Gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, dan Manosa)

Media gula-gula terdiri dari 5 macam yaitu Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, dan Manosa. Kelima media tersebut cara pembuatannya sama namun bahannya saja yang berbeda yaitu Glukosa/Laktosa/Sukrosa/Maltosa/Manosa. Cara pembuatannya adalah sebagai berikut :

1. Komposisi aslinya adalah melarutkan 1 gram bahan gula dalam 100 ml Water pepton. Namun untuk pemeriksaan 30 sampel hanya dibutuhkan 30 tabung tiap macam gula. Setiap tabung berisi 5 ml media gula.

$$30 \text{ tabung} \times 5 \text{ ml} = 150 \text{ ml}$$

$$\frac{1 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 1.5 \text{ gram}$$

Jadi untuk membuat media gula yaitu dengan melarutkan 1.5 gram ke dalam 150 ml Water Pepton.

2. Cara membuat Water Pepton adalah melarutkan 25.5 gram dalam 1000 ml aquadest dan dipanaskan sampai mendidih.
3. Bahan media gula 1.5 gram dilarutkan dengan 150 ml Water Pepton lalu ditambah dengan Brom Timol Blue (BTB) sebanyak 1.5 ml diaduk hingga tercampur sempurna.

4. Kemudian dituang di dalam tabung yang telah berisi tabung durham, setiap tabung berisi 5 ml media gula. Tabung ditutup dengan kapas kasa dan tabung dibungkus rapat.
5. Media gula di steril dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1.5 atm selama 15 menit.
6. Media gula-gula siap digunakan.

D. Indol

Indol adalah media yang komposisinya yaitu water pepton. Menurut petunjuk pembuatan dari label bahan Water Pepton produksi Merck KGaA. Cara pembuatannya adalah sebagai berikut :

1. Komposisi aslinya adalah melarutkan 25.5 gram bahan water pepton dalam 1000 ml Aquadest. Namun untuk pemeriksaan 30 sampel hanya dibutuhkan 30 tabung indol yang masing-masing berisi 5 ml indol.

$$30 \text{ tabung} \times 5 \text{ ml} = 150 \text{ ml}$$

$$\frac{25.5 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 3.825 \text{ gram}$$

Jadi melarutkan 3.825 gram ke dalam 150 ml Aquadest.

2. Memanaskan sampai mendidih pada hot plate, kemudian mematikan hot plate dan menunggu sampai hangat.
3. Mengukur pH media hingga sesuai dengan pH 7.0 ±0.2. Jika pH terlalu tinggi ditambah HCL dan jika pH terlalu rendah ditambah NaOH.

4. Kemudian menuanginya ke tabung. Setiap tabung berisi 5 ml media indol. Setelah terisi, tabung ditutup dengan kapas kasa. dan tabung dibungkus rapat.
5. Media indol di steril dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1.5 atm selama 15 menit.
6. Media indol siap untuk digunakan.

E. Metil Red (MR)

Prosedur pembuatan metil red (MR) adalah sebagai berikut :

1. Menimbang 3 bahan untuk pembuatan MR yaitu Pepton from meat, K_2HPO_4 dan Glukosa.

Untuk 30 tabung MR dengan volume setiap tabung 5 ml.

$$30 \text{ tabung} \times 5 \text{ ml} = 150 \text{ ml}$$

$$\text{Pepton from meat} : \frac{0.5 \text{ gram}}{80 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 3.825 \text{ gram}$$

$$K_2HPO_4 : \frac{0.5 \text{ gram}}{80 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 3.825 \text{ gram}$$

$$\text{Glukosa} : \frac{0.5 \text{ gram}}{80 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 3.825 \text{ gram}$$

Jadi mencampur ketiga bahan tersebut dan melarutkannya ke dalam 150 ml Aquadest.

2. Memanaskan sampai mendidih pada hot plate, kemudian mematikan hot plate dan menunggu sampai hangat.
3. Mengukur pH media hingga sesuai dengan pH 7.0 ± 0.2 . Jika pH terlalu tinggi ditambah HCL dan jika pH terlalu rendah ditambah NaOH.

4. Kemudian menuanginya ke tabung. Setiap tabung berisi 5 ml media MR. Setelah terisi tabung ditutup dengan kapas kasa dan tabung dibungkus rapat.
5. Media MR di steril dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1.5 atm selama 15 menit.
6. Media MR siap untuk digunakan.

F. Voges Proskauer (VP)

Prosedur pembuatan Voges Proskauer (VP) adalah sebagai berikut :

1. Menimbang 3 bahan untuk pembuatan VP yaitu Pepton from meat, K_2HPO_4 dan Glukosa.

Untuk 30 tabung VP dengan volume setiap tabung 5 ml.

$$30 \text{ tabung} \times 5 \text{ ml} = 150 \text{ ml}$$

$$\text{Pepton from meat} : \frac{0.5 \text{ gram}}{80 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 3.825 \text{ gram}$$

$$K_2HPO_4 : \frac{0.5 \text{ gram}}{80 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 3.825 \text{ gram}$$

$$\text{Glukosa} : \frac{0.5 \text{ gram}}{80 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 3.825 \text{ gram}$$

Jadi mencampur ketiga bahan tersebut dan melarutkannya ke dalam 150 ml Aquadest.

2. Memanaskan sampai mendidih pada hot plate, kemudian mematikan hot plate dan menunggu sampai hangat.
3. Mengukur pH media hingga sesuai dengan pH 7.0 ± 0.2 . Jika pH terlalu tinggi ditambah HCL dan jika pH terlalu rendah ditambah NaOH.

4. Kemudian menuanginya ke tabung. Setiap tabung berisi 5 ml media VP. Setelah terisi tabung ditutup dengan kapas kasa dan tabung dibungkus rapat.
5. Media VP di steril dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1.5 atm selama 15 menit.
6. Media VP siap untuk digunakan.

G. Urea Agar

Cara pembuatannya adalah sebagai berikut :

1. Komposisi aslinya adalah melarutkan 21 gram bahan urea agar dalam 1000 ml Aquadest. Namun untuk pemeriksaan 30 sampel hanya dibutuhkan 30 tabung urea yang masing-masing berisi 3 ml urea.

$$30 \text{ tabung} \times 3 \text{ ml} = 90 \text{ ml}$$

$$\frac{21 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 90 \text{ ml} = 1.89 \text{ gram}$$

Jadi melarutkan 1.89 gram ke dalam 90 ml Aquadest.

2. Memanaskan sampai mendidih pada hot plate, kemudian mematikan hot plate dan menunggu sampai hangat.
3. Mengukur pH media hingga sesuai dengan pH 6.8 ±0.2. Jika pH terlalu tinggi ditambah HCL dan jika pH terlalu rendah ditambah NaOH.
4. Menyiapkan dan membungkus alat yang digunakan untuk membuat Harnstoff yaitu spatula, gelas arloji, Erlenmeyer kosong, Erlenmeyer berisi aquadest, dan pipet.

5. Media ureadan alat untuk harnstoff disteril dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1.5 atm selama 15 menit. Setelah di steril, menimbang harnstoff dalam kondisi steril sebanyak $\frac{20\text{gram}}{1000\text{ ml}} \times 9\text{ml} = 0.18\text{ gram}$ dan dilarutkan dalam aquadest steril sebanyak 9 ml (pebandingan aquadest harnstoff dan aquadest urea adalah 1:10).
6. Harnstoff dicampurkan ke urea agar, Kemudian menuangnya ke tabung. Setiap tabung berisi 3 ml. Setelah terisi tabung ditutup dengan kapas kasa, tabung langsung diletakkan posisi hampir mendatar sehingga menghasilkan media urea padat yang hanya berbentuk lereng.
7. Media urea agar siap digunakan.

H. Simons Citrat

Menurut petunjuk pembuatan dari label bahan Simons Citrat produksi Merck KGaA. Cara pembuatannya adalah sebagai berikut :

1. Komposisi aslinya adalah melarutkan 22.5 gram bahan simons citrate dalam 1000 ml Aquadest. Namun untuk pemeriksaan 30 sampel hanya dibutuhkan 30 tabung simons citrate yang masing-masing berisi 3 ml simons citrat.

$$30\text{ tabung} \times 3\text{ ml} = 90\text{ ml}$$

$$\frac{22.5\text{gram}}{1000\text{ ml}} \times 90\text{ml} = 2.025\text{ gram}$$

Jadi melarutkan 2.025gram ke dalam 90 ml Aquadest.

2. Memanaskan sampai mendidih pada hot plate, kemudian mematikan hot plate dan menunggu sampai hangat.

3. Mengukur pH media hingga sesuai dengan pH 6.6 ± 0.2 . Jika pH terlalu tinggi ditambah HCL dan jika pH terlalu rendah ditambah NaOH.
4. Kemudian menuanginya ke tabung. Setiap tabung berisi 3 ml media simons citrat. Setelah terisi tabung ditutup dengan kapas kasa. dan tabung dibungkus rapat.
5. Media simons citrat di steril dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1.5 atm selama 15 menit.
6. Setelah di steril, media simons citrat langsung diletakkan posisi hampir mendatar sehingga menghasilkan media simons sitrat padat yang hanya berbentuk lereng.
7. Media simons citrat siap digunakan.

I. Semi Solid/Motil

Cara pembuatan media semi solid adalah sebagai berikut :

1. Menimbang 3 bahan untuk pembuatan semi solid yaitu Pepton from meat, NaCl dan Agar-agar.

Untuk 30 tabung semi solid dengan volume setiap tabung 5 ml.

$$30 \text{ tabung} \times 5 \text{ ml} = 150 \text{ ml}$$

$$\text{Pepton from meat} : \frac{5 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 0.75 \text{ gram}$$

$$\text{NaCl} : \frac{5 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 0.75 \text{ gram}$$

$$\text{Agar-agar} : \frac{3 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 0.45 \text{ gram}$$

Jadi mencampur ketiga bahan tersebut dan melarutkannya ke dalam 150 ml Aquadest.

2. Memanaskan sampai mendidih pada hot plate, kemudian mematikan hot plate dan menunggu sampai hangat.
3. Mengukur pH media hingga sesuai dengan pH 7.6. Jika pH terlalu tinggi ditambah HCL dan jika pH terlalu rendah ditambah NaOH.
4. Kemudian menuangnya ke tabung. Setiap tabung berisi 5 ml media Semi solid. Setelah terisi tabung ditutup dengan kapas kasa.dan tabung dibungkus rapat.
5. Media Semi solid di steril dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1.5 atm selama 15 menit.
6. Media Semi solid siap untuk digunakan.

J. Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Menurut petunjuk pembuatan dari label bahan TSIA produksi Merck KGaA. Cara pembuatannya adalah sebagai berikut :

1. Komposisi aslinya adalah melarutkan 65 gram bahan TSIA dalam 1000 ml Aquadest. Namun untuk pemeriksaan 30 sampel hanya dibutuhkan 30 tabung TSIA yang masing-masing berisi 5 ml TSIA.

$$30 \text{ tabung} \times 5 \text{ ml} = 150 \text{ ml}$$

$$\frac{65 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 9.75 \text{ gram}$$

Jadi melarutkan 9.75 gram ke dalam 150 ml Aquadest.

2. Memanaskan sampai mendidih pada hot plate, kemudian mematikan hot plate dan menunggu sampai hangat.

3. Mengukur pH media hingga sesuai dengan $\text{pH } 7.4 \pm 0.2$. Jika pH terlalu tinggi ditambah HCL dan jika pH terlalu rendah ditambah NaOH.
4. Kemudian menuanginya ke tabung. Setiap tabung berisi 5 ml media TSIA. Setelah terisi tabung ditutup dengan kapas kasa. dan tabung dibungkus rapat.
5. Media TSIA di steril dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1.5 atm selama 15 menit.
6. Setelah di steril, media TSIA langsung diletakkan posisi miring setengah sehingga menghasilkan media TSIA padat yang berbentuk lereng dan dasar.
7. Media TSIA siap digunakan

3.5.2 Cara pengambilan sampel

Cara pengambilan sampel mentega di pedagang terang bulan yaitu dengan cara sampel ± 2 sendok (massa ± 25 gram) diletakkan di plastik dengan bantuan sendok mentega milik pedagang, kemudian plastik ditali rapat.

3.5.3 Pemeriksaan *Salmonella sp.* pada sampel mentega

Pemeriksaan sampel mentega yang telah diletakkan di plastik diawali dengan menuang seluruh sampel mentega yang ada di plastik ke dalam media pemupuk yaitu media *Selenite Broth*. Kemudian dilanjutkan pada media selektif yaitu *Salmonella Shigella Agar/SSA*, kemudian diamati tumbuh atau tidaknya bakteri pada media tersebut. Jika pada media SSA ditumbuhi koloni bakteri, maka dilanjutkan pemeriksaan

dengan media Biokimia reaksi, kemudian hasil pemeriksaan Biokimia Reaksi dibandingkan dengan sifat *Salmonella* sp. pada umumnya.

3.5.3.1 Alat

Pada pemeriksaan *Salmonella* sp. pada sampel mentega, dibutuhkan alat – alat seperti Inkubator, Rak Tabung, Ose bulat, Ose Jarum, Pembakar spirtus, dan Pipet tetes, Erlenmeyer 250ml, Tabung, Petri.

3.5.3.2 Bahan

Pada pemeriksaan *Salmonella* sp. pada sampel mentega, dibutuhkan bahan-bahan seperti media *Selenite Broth*, *Salmonella Shigella* Agar/SSA, Media Biokimia Reaksi (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, Manosa, Indol, MR, VP, Simons Citrat, Urea, Motil/Semi Solid, TSIA). Serta beberapa reagen untuk pengujian seperti reagen indol/kovac, Indikator Methyl Red, KOH 40% dan Alpha-naftol 5%.

3.5.3.3 Prosedur penanaman sampel mentega pada media

A. Penanaman sampel ke media pemupuk (*Selenite Broth*)

Dituang seluruh sampel mentega yang ada di plastik ke media *Selenite Broth*, kemudian erlenmeyer ditutup kembali, dan selanjutnya dilakukan inkubasi media tersebut di suhu 37°C selama 1×24 jam di inkubator.

B. Penanaman dari media *Selenite Broth* ke media *Salmonella Shigella* Agar (SSA)

Disiapkan hasil pemupukan bakteri pada *Selenite Broth* setelah inkubasi 1×24 jam. Kemudian diambil sebanyak 0,2 ml dengan spuit

steril kemudian dilakukan penanaman pada media *Salmonella Shigella* Agar/SSA dengan cara spread plate (cawan sebar) menggunakan batang L. Selanjutnya media SSA tersebut diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 1×24 jam.

C. Penanaman dari media SSA ke media biokimia reaksi

Untuk media SSA yang telah ditumbuhi koloni, dilakukan pemeriksaan lanjutan dengan media Biokimia reaksi. Melakukan penanaman pada media biokimia dengan mengambil 1 koloni pada media SSA. Cara penanaman pada media biokimia reaksi adalah sebagai berikut :

1. Media Biokimia Reaksi Cair seperti media gula-gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, Manosa), media Indol, VP, MR, dan media Biokimia reaksi padat berbentuk lereng seperti Simons Citrat dan Urea. Cara penanamannya yaitu dengan mengambil 1 mata ose bulat dari 1 koloni di media SSA lalu di tanam berurutan di media Biokimia reaksi tersebut tanpa mengambil koloni lagi, dan terakhir ose bulat di goreskan pada lereng TSIA.
2. Media Biokimia Reaksi TSIA dan Semi solid/Motil. Cara penanamannya yaitu dengan mengambil 1 mata ose jarum dari koloni yang sama di SSA lalu ditanam berurutan dengan cara ditusukkan ke media TSIA kemudian ke media Semi solid/motil.

Setelah seluruh media Biokimia reaksi sudah tertanami koloni dari SSA, selanjutnya dilakukan inkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

D. Pengamatan hasil inkubasi media biokimia reaksi

Setelah diinkubasi selama 24 jam, media Biokimia reaksi dikeluarkan dari inkubator, dan dilakukan pengamatan sifat dari bakteri dengan mengamati reaksi/perubahan yang terjadi pada media. Hasil Reaksi menurut Radji dan Biomed (2011) adalah sebagai berikut :

1. Media gula-gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, Manosa).

Jika bakteri dapat memfermentasi gula tersebut, maka media berubah warna menjadi kuning.

2. Media Indol, setelah diinkubasi ditambahkan dengan 3 tetes reagen indol/kovac. Terbentuknya gelang merah menunjukkan reaksi positif, dan bila tidak berwarna atau kuning kecoklatan berarti menunjukkan reaksi negatif.

3. Media Voges Proskauer (VP), setelah diinkubasi ditambahkan 2 tetes KOH 40% dan 3 tetes reagen alpha-naftol 5 %. Terbentuknya warna merah menunjukkan reaksi positif, dan bila tidak berwarna merah maka reaksi negatif.

4. Media Urea Agar, setelah diinkubasi selama 24 jam, jika mengalami perubahan warna menjadi merah muda menunjukkan reaksi positif, dan jika tidak berubah warna menunjukkan reaksi negatif.

5. Pada media Triple Sugar Iron Agar (TSIA), setelah diinkubasi selama 24 jam, penilaian hasil pengamatan meliputi :
 - a. Pada bagian dasar/tegak, dapat dikatakan memfermentasi glukosa bila warna bagian dasar/tegak berubah warna menjadi kuning (Acid), dan dikatakan tidak memfermentasi glukosa bila tidak terjadi perubahan warna (alkali). Serta dikatakan terbentuknya H_2S bila warna media berubah menjadi hitam.
 - b. Pada bagian lereng/miring, dapat dikatakan memfermentasi Laktosa dan sukrosa apabila warna media di bagian lereng berubah warna menjadi kuning (Acid). Serta dikatakan tidak memfermentasi Laktosa dan Sukrosa bila tidak terjadi perubahan warna (alkali).
6. Media Metil Red (MR), setelah diinkubasi ditambahkan 5 tetes indikator Metil Red (MR), hasil uji positif dibuktikan dengan terbentuknya warna merah, dan negatif bila tidak terjadi perubahan warna/terbentuk warna kuning (Harti, 2015).
7. Media Simons Citrat, setelah diinkubasi selama 24 jam, jika mengalami perubahan warna dari hijau menjadi biru menunjukkan hasil positif, dan jika tidak mengalami perubahan (warna tetap hijau) maka hasil negatif (Harti, 2015).
8. Media semi solid/ motil, hasil menunjukkan positif bila pertumbuhan koloni merata pada media, dan negatif bila hanya ada pertumbuhan koloni di bekas tusukan (Harti, 2015).

3.6 Tabulasi Data

Data hasil penelitian yang diperoleh dapat ditabulasikan seperti tabel 3.1.

Tabel 3.1. Hasil identifikasi *Salmonella sp.* pada mentega kiloan yang digunakan pedagang Terang Bulan di Jalan Pogot Surabaya.

No	Kode Sampel	Tanggal pemeriksaan	Hasil identifikasi <i>Salmonella sp.</i>		Keterangan
			Positif	Negatif	
1.					
s/d					
30					

3.7 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data pada penelitian ini yaitu deskriptif dengan skala nominal. Karena data yang diperoleh berupa keterangan positif (+) dan negatif (-) adanya kontaminasi bakteri *Salmonella sp.* kemudian dicari presentase (%) mentega kiloan yang digunakan pedagang terang bulan yang memenuhi syarat (MS) dan tidak memenuhi syarat (TMS) sesuai dengan SNI Batas Maksimum Cemar Mikroba Dalam Pangan (SNI 7388:2009).

