

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Salmonella spp.*
PADA KARKAS DAN VISERA ASAL PENJUAL
AYAM DI KOTA MALANG**

SKRIPSI

Oleh :

FITRI SANDRA PRASTIWI

0811310016



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Salmonella spp.*
PADA KARKAS DAN VISERA ASAL PENJUAL
AYAM DI KOTA MALANG**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :
FITRI SANDRA PRASTIWI
0811310016



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Salmonella spp.* PADA KARKAS DAN VISERA ASAL PENJUAL AYAM DI KOTA MALANG

Oleh:
FITRI SANDRA PRASTIWI
0811310016

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 18 Februari 2013
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

drh. Masdiana C. Padaga, M. App. Sc

NIP. 19560210 198403 2 001

Dyah Kinasih Wuragil, S.Si. MP, M.Sc

NIP. 19820914 200912 2 004

Mengetahui,
Ketua Program Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan
Program Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh. MS

NIP. 19480615 197702 2 001

Prof. Dr. Aulanni'am, drh. DES

NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fitri Sandra Prastiwi
NIM : 0811310016
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Salmonella spp.* PADA KARKAS DAN VISERA ASAL PENJUAL AYAM DI KOTA MALANG

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 18 Februari 2013
Yang menyatakan,

Fitri Sandra Prastiwi
NIM. 0811310016

Isolasi dan Karakterisasi *Salmonella spp.* pada Karkas dan Visera Asal Penjual Ayam di Kota Malang

ABSTRAK

Salmonella spp. merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, dan memiliki dinding sel yang tersusun lipopolisakarida (LPS) dan mampu memproduksi endotoksin. Endotoksin yang mengkontaminasi produk asal unggas menyebabkan *foodborne disease* yang disebut salmonellosis. Salmonellosis dapat menyebabkan inflamasi pada usus, demam, bahkan kematian. Dalam mencegah penyebaran *Salmonella spp.* diperlukan deteksi terhadap keberadaan cemaran *Salmonella spp.* pada produk karkas dan visera unggas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat pencemaran dan keragaman profil pita protein *Salmonella spp.* pada karkas dan visera asal penjual ayam di Kota Malang. Penelitian ini menggunakan sampel dari kulit, daging dan visera yang diambil dari penjual ayam Mertojoyo dan Sawojajar dengan 3 ulangan percobaan. Karakterisasi *Salmonella spp.* dilakukan berdasarkan sifat fenotip, uji biokimia dan serologis serta profil pita protein dengan metode SDS-PAGE. Hasil penelitian menunjukkan tingkat cemaran *Salmonella spp.* di Mertojoyo pada daging $7,9 \times 10^8$ cfu/ml, kulit $9,9 \times 10^8$ cfu/ml, dan visera $1,05 \times 10^9$ cfu/ml sedangkan di Sawojajar pada daging $3,4 \times 10^8$ cfu/ml, kulit $6,0 \times 10^8$ cfu/ml, dan visera $8,0 \times 10^8$ cfu/ml dari 23 isolat hasil karakterisasi fenotip didapatkan 9 isolat yang diduga mendekati *S. enteritidis*. Analisa profil pita protein menggunakan SDS-PAGE menunjukkan adanya persamaan berat molekul pita protein sebesar 37,87 kDa yang dapat ditemukan pada semua serotipe *Salmonella spp.* dan berat molekul pita protein sebesar 72,39 kDa yang memiliki kemiripan hampir sama dengan berat molekul pita protein *S. enteritidis*.

Kata kunci : Isolasi, Karakterisasi, *Salmonella spp.*, Karkas, Visera, SDS-PAGE

Isolation and Characterization of *Salmonella* spp. in Carcass and Viscera From The Poulterer's Shop in Malang City

ABSTRACT

Salmonella spp. is Gram negative bacteria, with rod-shaped, and has a cell wall composed of lipopolysaccharide (LPS) and capable to produce endotoxins. Contamination of endotoxin in poultry products cause foodborne disease called salmonellosis. Salmonellosis can cause inflammation of gastrointestinal tract, fever, and even death. In preventing the spread of *Salmonella* spp. contamination is needed the detection of the presence of *Salmonella* spp. on the carcass and viscera of poultry products. This study aimed to determine the level of contamination and the diversity profiles of *Salmonella*'s protein bands. in carcass and viscera from the poulterer shop in the Malang city. This study used a sample of skin, chicken meat and viscera were extracted from poulterer's shop in Sawojajar and Mertojoyo with 3 replications. Characterization of *Salmonella* spp. performed based on phenotypic, biochemical and serological assayed, profiles of protein bands analyzed using SDS-PAGE. The result showed contamination of *Salmonella* spp. in Mertojoyo were $7,9 \times 10^8$ cfu/ml in chicken meat, $9,9 \times 10^8$ cfu/ml in skin, and $1,05 \times 10^9$ cfu/ml in viscera while in Sawojajar $3,4 \times 10^8$ cfu/ml, $6,0 \times 10^8$ cfu/ml, and $8,0 \times 10^8$ cfu/ml in chicken meat, skin, and viscera respectively. Analysis of protein bands profiles using SDS-PAGE showed the similarity of 37,87 kDa of protein bands were found in all serotypes of *Salmonella* spp. and molecular weight of 72,39 kDa of protein bands that have a similarity to the protein bands of *S. enteritidis*.

Keywords : Isolation, Characterization, *Salmonella* spp., Carcass, Viscera, SDS-PAGE

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang melimpahkan Rahmat dan Hidayah – Nya kepada penulis skripsi yang berjudul “**Isolasi dan Karakterisasi *Salmonella spp.* pada Karkas dan Visera Asal Penjual Ayam di Kota Malang**” ini dapat terselesaikan sebagai syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Penelitian ini merupakan bagian dari payung penelitian yang diketuai drh. Masdiana C.Padaga, M. App, Sc. Penulis menyampaikan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu membimbing dalam menyelesaikan skripsi ini, secara khusus penyusun menyampaikan terima kasih kepada:

1. drh. Masdiana C.Padaga, M. App, Sc dan Dyah Kinasih Wuragil, S.Si. MP., M.Sc selaku dosen pembimbing atas ilmu, bimbingan, nasehat, kesabaran, fasilitas dan waktu dalam penulisan karya tulis ini.
2. Dr. Dra. Herawati, MP. Dan drh. Dyah Ayu Oktavianie, M. Biotech. selaku dosen penguji atas fasilitas waktu, kritik, dan saran dalam penulisan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, drh., MS. selaku Ketua Program Kedokteran Hewan dan Prof. Dr. Aulanni'am, drh, DES selaku Ketua Program Studi Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan demi kemajuan Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
4. Titiek Nurfaida S.Si dan Ilzamha Khadijah S.Si sebagai laboran di Laboratorium Mikrobiologi Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya atas kesabarannya membantu dan membimbing selama penelitian.
5. Ayanda Drs. Soenarto, Ibunda Harwati, kakanda Dyah Anggraeni, S.H., Adi Sasmito, S.E., Erwin Anggraito, S.T., Irna Kusumaningrum, S. Psi. dan keponakan Salwa Zahra Hafizhah, Gadiza Hayuningrum, Ganis Wina Hayuningrum tercinta atas segala kasih sayang, perhatian, bimbingan, nasihat, motivasi, dukungan materiil maupun moril serta doa tanpa henti kapan pun dan di mana pun penulis berada.

6. Sahabat terkasih Viska Marchelen Widyaastuti, Christina Dewi P., Isma P.H.P., Ghariza F.E., atas bantuan ilmu, semangat, dukungan moril, doa dan keceriaan selama penulisan skripsi ini.
7. Teman seperjuangan penelitian Arweniuma Ikawikanti dan Silvia Anjar atas kerjasama dan dukungan moril selama penelitian serta seluruh teman “Gametogenesis 2008” atas kebersamaan selama ini.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 18 Februari 2013



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Batasan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. <i>Salmonella spp.</i>	5
2.2. Kontaminasi <i>Salmonella spp.</i> pada Unggas	8
2.3. Deteksi <i>Salmonella spp.</i>	9
2.4. Metode Karakterisasi Menggunakan SDS-PAGE	10
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DN HIPOTESIS PENELITIAN	12
3.1. Kerangka Konseptual	12
3.2. Hipotesis Penelitian	13
BAB 4. METODE PENELITIAN	14
4.1. Tempat dan Waktu Penelitian	14
4.2. Sampel Penelitian	14
4.3. Alat dan Bahan Penelitian	14
4.4. Tahap Penelitian	15
4.5. Analisis Data	18
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
5.1. Jumlah Koloni <i>Salmonella spp.</i> Asal Karkas dan Visera	19
5.2. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri <i>Salmonella spp.</i> pada Karkas dan Visera Ayam	22
5.3. Analisa Pita Protein <i>Salmonella spp.</i>	26
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	29
6.1. Kesimpulan	29
6.2. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	35



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Tabel Hasil Uji Biokimia terhadap Reaksi <i>Salmonella spp</i>	10
5.1. Tabel Rerata Koloni <i>Salmonella spp</i> Asal Karkas dan Visera Ayam	19
5.2. Tabel Hasil Pengamatan Karakterisasi <i>Salmonella spp</i>	24
5.3. Tabel Karakterisasi Isolat <i>Salmonella spp.</i> berdasarkan Berat Molekul....	27



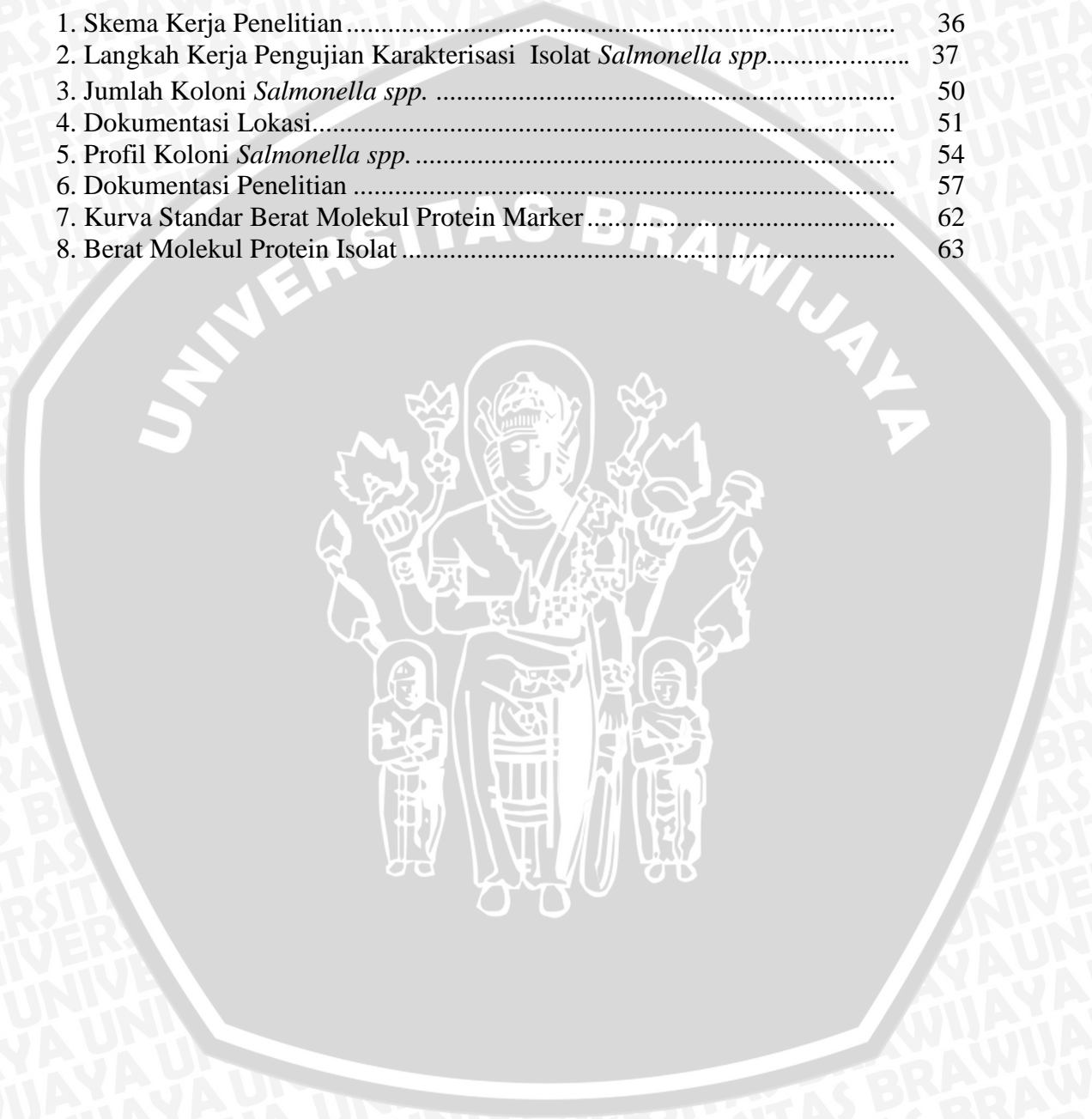
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Gambar Morfologi <i>Salmonella spp.</i>	5
3.1. Gambar Kerangka Konsep Penelitian.	12
5.1. Gambar Morfologi Isolat <i>Salmonella spp.</i>	23
5.2. Gambar Fenogram hasil pengamatan isolat bakteri	25
5.3. Gambar Profil Pita Protein isolat <i>Salmonella spp.</i>	27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	36
2. Langkah Kerja Pengujian Karakterisasi Isolat <i>Salmonella spp.</i>	37
3. Jumlah Koloni <i>Salmonella spp.</i>	50
4. Dokumentasi Lokasi.....	51
5. Profil Koloni <i>Salmonella spp.</i>	54
6. Dokumentasi Penelitian	57
7. Kurva Standar Berat Molekul Protein Marker	62
8. Berat Molekul Protein Isolat	63



DAFTAR ISTILAH DAN ARTI LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
LPS	Lipopolisakarida
SDS-PAGE	<i>Sodium Dodecyl Suphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
kDa	Kilo Dalton
cfu/ml	<i>Colony-Forming Unit</i> per mililiter
µm	Mikrometer
H ₂ S	Hidrogen Sulfat
pH	<i>Power of Hidrogen</i>
WA	<i>Water Availability</i>
PW	<i>Peptone Water</i>
SCB	<i>Selenite Cystine Broth</i>
XLD	<i>Xylose-lisine-deoxycholate</i>
TSIA	<i>Triple Sugar Iron Agar</i>
Na ₂ HPO ₄	<i>Natrium Dihidrogen Fosfat</i>
MRVP	<i>Methyl Red, Voges-Proskauer</i>
SCA	<i>Simmons Citrate Agar</i>
NA	<i>Nutrient Agar</i>
NB	<i>Nutrient Broth</i>
NaCl	<i>Natrium Clorida</i>
H ₂ O ₂	<i>Hidrogen Peroksida</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
EtOH	<i>Ethanol Absolut</i>
Tris-HCl	<i>Tris-Asam Klorida</i>
SNI	Standar Nasional Indonesia
BM	Berat Molekul
Rf	<i>Retradation Factor</i>
G	Gram
UPGMA	<i>Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Saat ini keamanan pangan dari mikroba merupakan masalah yang menjadi perhatian dunia (Abdellah, *et al.*, 2009). Salmonellosis merupakan salah satu *foodborne disease* (Dominguez, *et al.*, 2002) yang disebabkan oleh *Salmonella spp.* Penyakit ini masih menjadi masalah utama di beberapa negara berkembang termasuk Indonesia yang diperkirakan terjadi sebanyak 60.000 hingga 1.300.000 kasus dengan sedikitnya 20.000 kematian pertahun (Suwandono, *et al.*, 2005). Menurut penelitian Cerro, *et al* (2002) dan Baeumler, *et all* (2000), menyebutkan bahwa sebanyak 8,7% karkas ayam merupakan media baik bagi pertumbuhan *Salmonella* karena karkas ayam mengandung banyak nutrisi seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, vitamin serta memiliki pH yang netral. *Salmonella spp.* termasuk bakteri berbahaya karena merupakan Gram negatif patogen yang memiliki lipopolisakarida (Libby, *et al.*, 2004). Lipopolisakarida merupakan komponen utama dari *outer membrane* yang mampu memproduksi endotoksin sehingga mampu berinteraksi dengan sistem *host immune* (Gyles, *et al.*, 2004).

Daging unggas merupakan sumber protein hewani yang baik, karena mengandung asam amino esensial yang lengkap dan dalam jumlah perbandingan yang seimbang. Selain itu, daging unggas lebih diminati oleh konsumen karena mudah dicerna, dapat diterima oleh mayoritas orang (Yashoda, *et al.*, 2001) dan dengan harga yang relatif murah (Cohen, *et al.*, 2007). Setiap tahun dilaporkan kebutuhan daging ayam sebagai bahan pangan di Indonesia terus meningkat, sehingga tuntutan keamanan pangan dari produk ini juga meningkat (Adriani dkk., 2000).

Menurut penelitian Setiowati, dkk (2011), persentase sampel daging ayam dari pasar tradisional di Indonesia yang positif tercemar *Salmonella* adalah 10,06% sedangkan pada visera ayam sebesar 12%. Kontaminasi *Salmonella spp.* pada ayam berasal dari peternakan yang terinfeksi dan kontaminasi pakan (Aksakal, 2010). Selain itu, kejadian meningkatnya salmonellosis karena sistem pemotongan tradisional, penanganan kebersihan, dan jarak transportasi. Setelah penyembelihan, rantai penyebaran *Salmonella spp.* berikutnya pada kulit dan daging berada di *retail outlets*. Pada konsumen, karkas ayam yang tercemar *Salmonella* berasal dari kontaminasi silang yaitu saat menyiapkan, mengolah, memasak di dapur, kontak langsung dengan karkas ayam, perkakas dapur yang tidak dicuci bersih (Cohen, *et al.*, 2007).

Dalam mencegah infeksi *Salmonella spp.* pada ayam, maka harus dengan dilakukan deteksi dan isolasi untuk mengontrol penyebab infeksi (Salehi, *et al.*, 2005; Carli, *et al.*, 2001). Menurut Durrani, *et al* (2008), teknik molekular dalam penelitian dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakteri dari makanan dan substansi biologi lainnya, salah satunya adalah *sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE). Beberapa penelitian tentang karakterisasi serotipe *Salmonella* menggunakan SDS-PAGE telah dilaporkan oleh Nakamura, *et al* (2002); Acik, *et al* (2005); Ngwai, *et al* (2005); Begum, *et al* (2008); dan Hassanain, (2008) yang bertujuan untuk mengontrol salmonellosis.

Pada bidang kedokteran hewan memiliki peran penting dalam mengawasi proses keamanan dan kelayakan produk pangan asal ayam ini mulai dari peternakan hingga konsumen (*from farm to table*). Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi *Salmonella spp.* pada karkas dan

visera asal penjual ayam di Kota Malang dengan menggunakan metode mikrobiologi standar serta SDS-PAGE.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Bagaimana tingkat kontaminasi *Salmonella spp.* pada karkas dan visera ayam asal penjual ayam di Kota Malang?
- 2) Bagaimana profil pita protein *Salmonella spp.* pada karkas dan visera ayam asal penjual ayam menggunakan metode SDS-PAGE?

1.3 Batasan Masalah

- 1) Sampel yang digunakan terdiri dari kulit, daging dan visera ayam.
- 2) Lokasi pengambilan sampel pada penjual ayam di kios Mertojoyo dan Sawojajar Kota Malang.
- 3) Dalam penelitian ini untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi *Salmonella spp.* menggunakan uji mikrobiologi, uji biokimia, uji serologis dan SDS-PAGE.

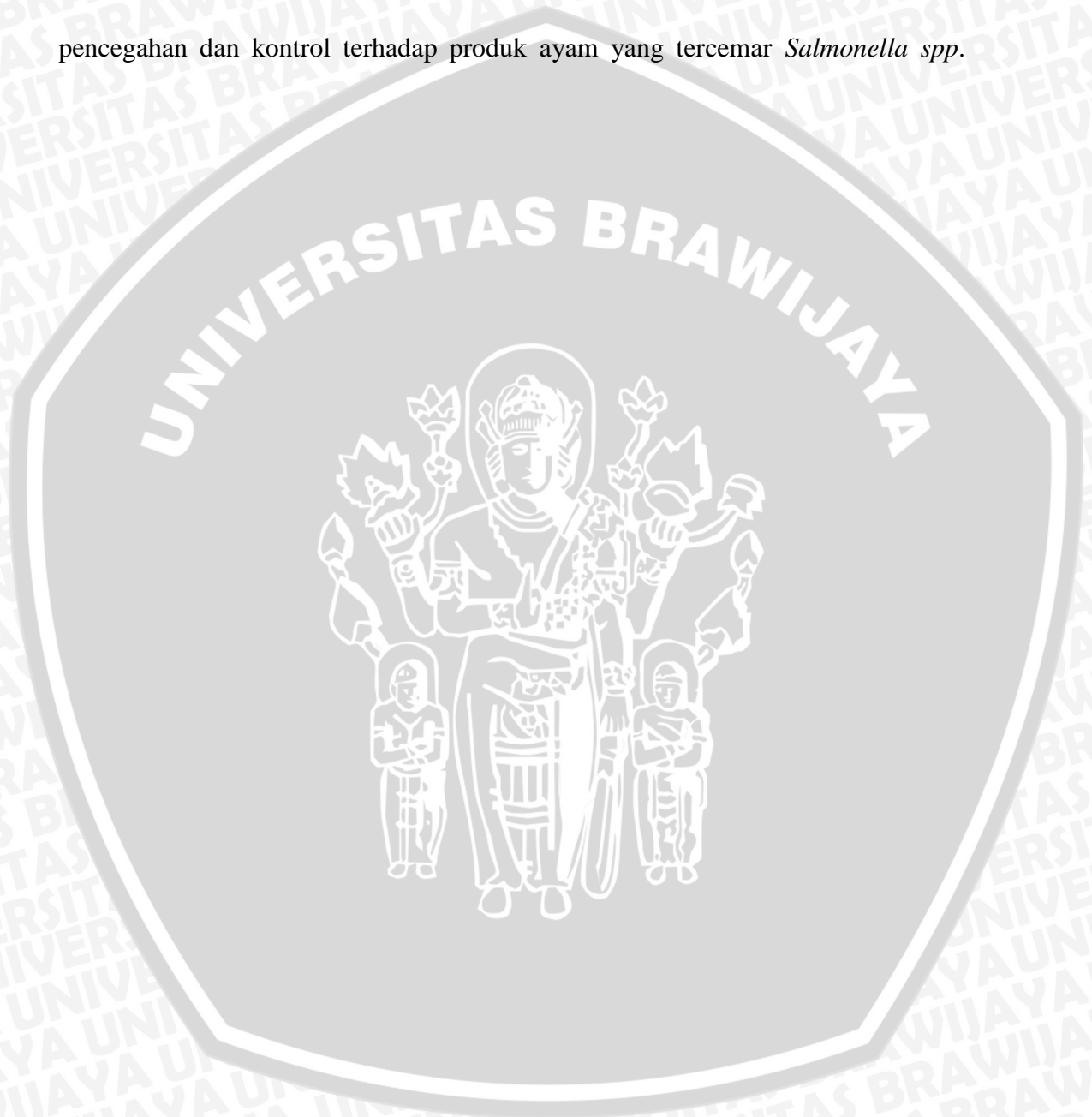
1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian *Salmonella spp.* ini untuk mengetahui:

- 1) Tingkat pencemaran *Salmonella spp.* pada karkas dan visera ayam asal penjual ayam di Kota Malang.
- 2) Profil pita protein *Salmonella spp.* pada karkas dan visera asal penjual ayam menggunakan metode SDS-PAGE.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi tentang tingkat pencemaran dan variasi/serotipe *Salmonella spp.* yang diisolasi dari karkas dan visera asal dari penjual ayam di Kota Malang sehingga dapat dilakukan pencegahan dan kontrol terhadap produk ayam yang tercemar *Salmonella spp.*

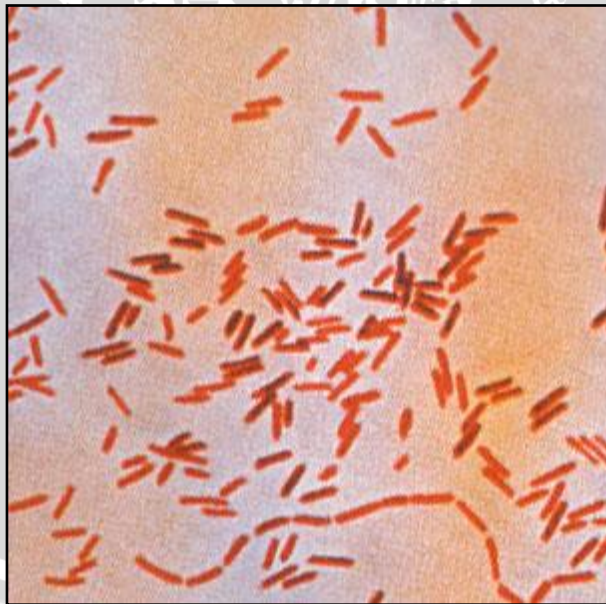


BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Salmonella spp.*

2.1.1 Karakteristik *Salmonella spp.*

Salmonella spp. termasuk bakteri famili dari Enterobacteriaceae, batang lurus, Gram negatif, tidak berspora, umumnya bergerak dengan flagel peritrik, bersifat fakultatif anaerob, dan berukuran 2 - 4 μm x 0.5 - 0,8 μm . *Salmonella spp.* umumnya tidak dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa, membentuk asam dan gas dari glukosa, memproduksi *hidrogen sulphite* atau H_2S . Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu antara 5°C-60°C, dengan suhu optimum 35°C-37°C. Selain itu, *Salmonella spp.* dapat tumbuh pada pH 4,1-9,0 dengan pH optimum 6,5-7,5 (Jawet'z, 2005). Bentuk morfologi *Salmonella spp.* ditunjukkan pada Gambar 2.1



Gambar 2.1. Morfologi sel *Salmonella spp.* berbentuk batang perbesaran 100x menggunakan mikroskop cahaya (Todar, 2008)

Berdasarkan taksonominya, *Salmonella spp.* dapat digolongkan sebagai berikut (Todar, 2008):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella spp.</i>

Salmonella spp. dapat diklasifikasikan menurut dasar reaksi biokimia dan serotipe yang diidentifikasi menurut struktur antigen O, H dan Vi yang spesifik (Jawet'z, 2005 ; Bennasar, *et al.*, 2000). Menurut reaksi biokimianya, *Salmonella spp.* dapat diklasifikasikan menjadi tiga spesies yaitu *S. typhi*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis* (Irianto, 2006). Berdasarkan serotipe, *Salmonella spp.* diklasifikasikan menjadi empat serotipe yaitu *S. paratyphi* A (serotipe group A), *S. paratyphi* B (serotipe group B), *S. paratyphi* C (serotipe group C), dan serotipe group D (Jawet'z, 2005). *Salmonella spp.* diklasifikasikan sesuai dengan bagan Kaufman-White berdasarkan pada antigen somatik O (*ohne*) dan antigen flagel H (*hauch*). Genus ini mempunyai struktur antigen tidak stabil dan dapat mengalami perubahan sewaktu-waktu. Dalam metode Kauffman-White, spesies *Salmonella spp.* diklasifikasikan lebih dari 2.300 serotipe (Patrick, *et al.*, 2005).

2.1.2 Salmonellosis

Salmonellosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella spp.* yang dapat menginfeksi manusia dan hewan. Salmonellosis ada 2 macam yaitu tifoid dan non tifoid. Salmonellosis-tifoid meliputi demam tifoid disebabkan *S.*

typhi dan demam paratifoid disebabkan oleh *S. paratyphi* A dan B. Salmonellosis-non tifoid disebabkan oleh serotipe *Salmonella spp.* yang tidak mempunyai hospes spesifik (Portillo, 2000).

Salmonella spp. bermultifikasi di dalam lambung *host* dengan melisis *subsequent* sehingga dihasilkan endotoksin. Endotoksin berasal dari lipopolisakarida yang merupakan bagian dari membran sel yang bertanggung jawab dalam *clinical symptoms* (Forsythe and Hayes, 2000). *Salmonella spp.* dapat bertahan hidup dalam asam lambung dan menempel pada sel epitel ileum melalui *mannose-resistant fimbriae*. *Salmonella spp.* masuk ke dalam sel epitel dengan *receptor mediated endocytosis* melalui *membrane-bound vacuole*, dimana akan memperbanyak diri dan melepaskan diri ke dalam lamina propia melalui membran sel basal. Sel inflamasi dengan cepat memproduksi prostaglandin untuk mengaktifkan *adenylate cyclase* dalam memproduksi sekresi cairan dalam lumen *intestinal*. Patogenesis oleh *Salmonella spp.* tersebut menyebabkan *enteritis* (Adams and Moss, 2000).

Lipopolisakarida berasal dari *Salmonella spp.* merupakan komponen utama dari *outer membrane* yang mampu memproduksi endotoksin hingga dapat berinteraksi dengan sistem *host immune* dan dapat menginduksi terjadi adanya inflamasi pada usus, demam hingga kematian (Gyles, *et al.*, 2004). Lipopolisakarida (LPS) terdiri dari 3 komponen utama yaitu *lipid A*, inti polisakarida, dan antigen O. *Lipid A* terbuat dari asam lemak dan fosfat yang bertanggung jawab dalam memproduksi endotoksin sehingga dapat menstimulasi respon sitokin *host* (Garcia-del Portillo, 2001).

2.2 Kontaminasi *Salmonella spp.* pada Unggas

Peternakan unggas memainkan peran penting dalam mengendalikan penyebaran infeksi dan kontaminasi *Salmonella spp.*. Hal ini dibuktikan dengan adanya penelitian dari anak ayam yang positif terinfeksi *Salmonella spp.* pada berbagai peternakan sebesar 4,8-9%. Anak ayam di peternakan lebih rentan terhadap infeksi *Salmonella spp.* karena tidak adanya mikroflora pelindung usus, hal ini menyebabkan tubuh anak ayam berusia 1 hari dapat terinfeksi dengan sedikitnya 5 sel *Salmonella spp.*. Pada tubuh ayam berusia 2 minggu, *Salmonella spp.* berkolonisasi karena telah memiliki mikroflora pelindung. Selain itu, kerentanan terinfeksi ayam muda dalam bertransmisi secara horisontal lebih cepat (Bailey, *et al.*, 2002). Ayam yang terinfeksi *Salmonella spp.* dari penetasan, dapat menjadi sumber infeksi dan kontaminasi lingkungan peternakan. *Salmonella spp.* menjadi resisten di lingkungan peternakan dalam waktu 1 tahun walaupun tidak terdapat ayam (Davies and Wray, 2000). Kontaminasi *Salmonella spp.* di peternakan ayam broiler dapat berasal dari beberapa sumber di lingkungan, antara lain pakan, komposisi pakan, air, limbah dan perkawinan (Jarquin, *et al.*, 2009).

Selanjutnya, cemaran *Salmonella spp.* pada karkas ayam berasal dari berbagai tahapan yaitu *Salmonella spp.* memasuki peredaran darah pada saat penyembelihan melalui alat-alat yang kurang bersih. Darah masih bersirkulasi selama beberapa saat setelah penyembelihan. Selain itu, cemaran *Salmonella spp.* masuk ke dalam daging adalah perendaman yang diperlukan untuk menghilangkan (mencabut) bulu pada ayam (Dartini, 2003).

Pertumbuhan *Salmonella spp.* pada karkas ayam diduga dapat terjadi pada saat penyimpanan yang dilakukan oleh pedagang, saat transportasi, penyimpanan di dapur, memasak yang kurang sempurna sehingga bakteri tersebut masih dapat

hidup (Anonymous, 2002). Karkas ayam yang tercemar *Salmonella spp.* selain sebagai penyebab *foodborne disease*, juga berpotensi sebagai sumber kontaminasi silang terhadap makanan lain. Pada umumnya, faktor utama kontaminasi silang terjadi pada saat menyiapkan, mengolah dan memasak makanan di dapur. Kontaminasi terjadi melalui kontak langsung dengan karkas ayam atau perkakas dapur yang tercemar *Salmonella spp.* atau tangan yang tidak dicuci bersih. Terjadinya kontaminasi juga dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti *water availability* (WA), pH, *packaging atmosphere*, serta kompetisi dengan mikroflora lain dalam usus dan waktu penyimpanan (Ariyanti dan Supar, 2005).

2.3 Deteksi *Salmonella spp.*

Tujuan isolasi dan karakterisasi *Salmonella spp.* pada makanan adalah untuk mengetahui adanya *foodborne pathogen bacteria* (Adams and Moss, 2000). *Salmonella spp.* diisolasi dari sampel feses atau lingkungan bertujuan untuk mendiagnosa suatu penyakit atau untuk mengidentifikasi sumber infeksi dari hewan. Metode standar untuk mendeteksi *Salmonella spp.* terdiri dari *nonselective pre-enrichment* yang diikuti oleh *selective enrichment* dan penanaman pada *selective* dan *differential* agar (Ruban, et al., 2010). Media selektif *Salmonella spp.* yang biasanya digunakan adalah *bismuth sulfite agar*, *Hektoen enteric* (HE), *brilliant green agar* dan *xylose-lisine-deoxycholate* (XLD) agar. Media untuk *Salmonella spp.* seperti *bromocresol purple lactose agar* terdiri dari laktosa dengan pH indikator, tidak mempunyai inhibitor untuk bakteri non-*Salmonella spp.* (Adams and Moss, 2000).

Setelah *Salmonella spp.* telah dikarakterisasi, maka uji selanjutnya adalah uji biokimia untuk konfirmasi karakteristik koloni spesifik *Salmonella spp.* (Gyles, *et al.*, 2004). Berikut tabel 2.1. hasil dari uji biokimia yang menunjukkan reaksi *Salmonella spp.*:

Tabel 2.1. Uji biokimia terhadap reaksi *Salmonella spp.* (Anonymous, 2008)

Pengujian	Reaksi <i>Salmonella spp.</i>
<i>Urease</i>	Tidak ada perubahan warna
<i>Methyl Red (MR)</i>	Warna merah menyebar
<i>Citrate</i>	Ada perubahan warna dari hijau menjadi biru
<i>Phenol red lactose broth</i>	Tidak ada perubahan warna dan gas
<i>Phenol red sucrose broth</i>	Tidak ada perubahan warna dan gas
Katalase	Timbulnya gelembung gas

2.4. Metode Karakterisasi Menggunakan *Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)*

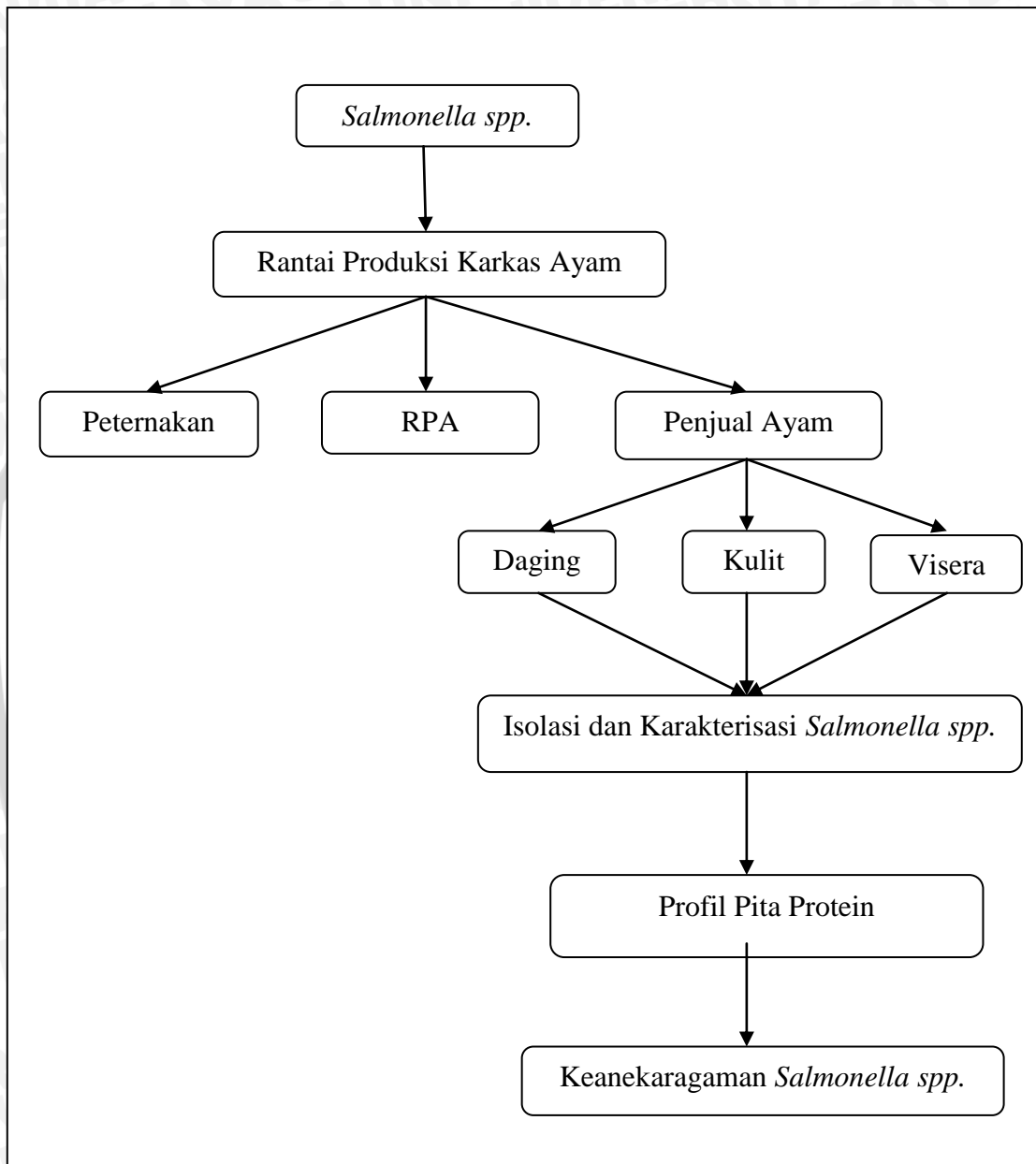
Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) merupakan teknik molekular penting untuk mengidentifikasi level spesies (Durrani, *et al.*, 2008) dan SDS-PAGE merupakan uji yang memiliki keuntungan yaitu sederhana. Beberapa penelitian dilakukan untuk mengetahui serotipe *Salmonella spp.* menggunakan SDS-PAGE untuk mengevaluasi *whole cell lysate* (Nakamura, *et al.*, 2002; Acik, *et al.*, 2005; Ngwai, *et al.*, 2005; Begum, *et al.*, 2008; Hassanain, 2008). Serotipe *Salmonella spp.* yang diteliti menggunakan SDS-PAGE terdiri dari *S.typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Agona*, *S. Anatu*, *S. Virchow* dan *S. Corvallis* (Begum, *et al.*, 2008). Menurut pendapat Acik, *et al.* (2005), terjadinya pola pita elektrophoretik menggunakan metode SDS-PAGE dapat digunakan untuk membedakan spesies *Salmonella spp.*. Serotipe *Salmonella spp.* yang sering diisolasi adalah *Salmonella enterica* (Patrick, *et al.*, 2005).

Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menganalisis profil pita protein. Metode ini khususnya berguna untuk memonitor hasil purifikasi protein dan metode ini memisahkan protein berdasarkan perbedaan berat molekul (Svendsen, *et al.*,2000).



BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual

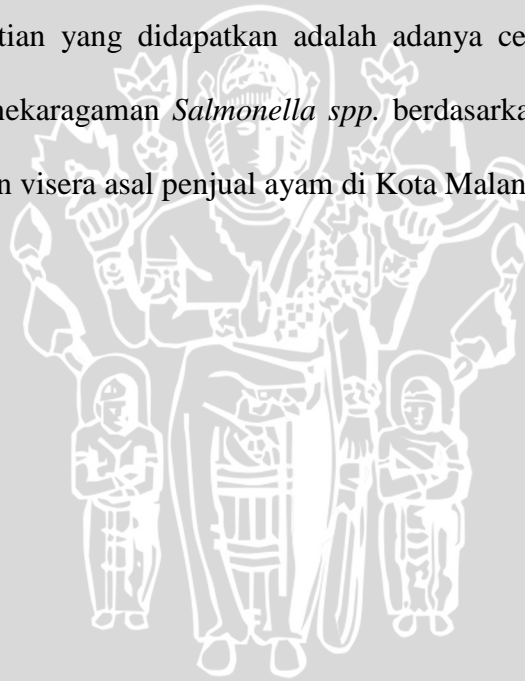


Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Cemaran *Salmonella spp.* dapat terjadi dalam rantai produksi karkas dan visera ayam yang meliputi lingkungan peternakan, RPA dan penjual ayam. Pada penelitian ini menggunakan sampel asal karkas yang diambil bagian kulit dan daging serta visera dari penjual ayam. Dalam membuktikan adanya cemaran *Salmonella spp.* maka dilakukan isolasi dan karakterisasi *Salmonella spp.* Setelah didapatkan isolat *Salmonella spp.*, maka dilanjutkan uji profil pita protein untuk mengetahui keanekaragaman *Salmonella spp.*

4.2. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian yang didapatkan adalah adanya cemaran *Salmonella spp.* dan terdapat keanekaragaman *Salmonella spp.* berdasarkan berat profil pita protein pada karkas dan visera asal penjual ayam di Kota Malang.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) dan Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini berlangsung selama 5 bulan mulai bulan Mei sampai September 2012.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel ayam yang terdiri dari kulit, daging dan visera diambil dari tempat penjual ayam di Mertojoyo dan Sawojajar Kota Malang. Penelitian ini dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dengan pengambilan duplo setiap ulangan secara aseptik.

4.3 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi, tabung Durham, *bluetip*, *yellowtip*, mikropipet, wadah sampel, mikromilifilter, gunting, pinset, jarum inokulasi (ose), pembakar bunsen, pH meter (3210 Set 2), timbangan (Metler Teledo/A1 204 0,0001 G), *magnetic stirrer*, *vortex* (Barnstead Thermolyne 37600 Mixer), inkubator (MMM Medcenter Qualtex Model 25), autoklaf, *refrigerator*, *Laminar Air Flow* (LAF) (Nuair Labgard Class II), erlemeyer 50 ml; 250 ml; 500 ml; dan 1000 ml, objek glass, kompor listrik, mikroskop cahaya (Olympus TL 2), foto digital mikroskopik (Olympus CX 41), eppendorf, sentrifugasi, *sonicator* (Branson 200), *power supply* (Bio-Rad), mini protein 3 gel *electrophoresis apparatus* (Bio-Rad).

Media dan reagen yang digunakan adalah PW (*Peptone Water*) (Oxoid L 37 Himedia REF RM 001-500G), SCB (*Selenite Cystine Broth*), XLD (*Xylose Lysine Deoxycholate*) (Difco 278850; Oxoid CM 0469), TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) (Oxoid CM 02577), Urea (Oxoid K 25031287 945), ekstrak *Yeast* (Oxoid LP 0021), Na₂HPO₄ (Merck M.1.06586.500), *phenol red*, ekstrak *beef* (Himedia RM 002-500G), *lactose* (Merck 1.07657.1000), *sucrose* (Merck 316 K 19271151), akuades, *maltose* (Merck K 20188911), *manitol*, MRVP medium (Oxoid CM 0043), SCA (*Simmons Citrate Agar*), Nutrient Agar (Oxoid CM 0003), Nutrient Broth (Himedia REF RM 002-500G), Natrium Clorida (NaCl) (Merck K 34022504 448), *Salmonella polyvalent somatic O* (Murex 5509 30855), *oxidase kit* (Oxoid BR 064A), gliserol (Merck K 20663194), pewarna Gram, H₂O₂ 3%, Gel *acrylamide* 30% dan 40%, Tris-HCl/SDS 1,5 M pH 8,8, Tris-HCl/SDS 0,5 M pH 6,8, aquadest, *Ammonium Persulfate* (APS), TEMED, *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,4, *ethanol absolut* (EtOH) 96%, Tris-HCl 20 mM, larutan *staining: Comassie blue R-250* (MP001), 10% *acetic acid*, *Page Ruler™ Prestained Protein Ladder Plus* (SM 1811), *running buffer*, RSB (*Reducing Sample Buffer*), larutan *destaining: Tris-HCl*, asam asetat glasial (AGG), dan aquadest.

4.4 Tahap Penelitian

Tahap penelitian ini terbagi 3 tahapan utama, yaitu: (1) Isolasi *Salmonella spp.* asal karkas (terdiri dari daging dan kulit) serta visera ayam, (2) Karakterisasi isolat bakteri berdasarkan sifat morfologi, biokimia dan serologis, serta (3) Analisa profil pita protein *Salmonella spp.* menggunakan SDS-PAGE. Skema kerja penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.5.1 Isolasi *Salmonella spp.* dari karkas (terdiri dari kulit dan daging) dan visera ayam

Isolasi *Salmonella spp.* menggunakan metode mikrobiologi sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 2897: 2008. Sampel yang digunakan dari kulit, daging, dan visera ayam dari tempat penjual ayam di Mertojoyo dan Sawojajar secara aseptis (Ruban *et al*, 2010) dan dimasukkan ke dalam wadah steril pada suhu 5°C. Setelah itu, masing-masing sampel diambil secara representatif pada semua bagian daging, kulit dan visera ayam kemudian ditimbang sebanyak 10 gram. Setiap sampel dilakukan pengenceran secara berseri (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7}) menggunakan *Peptone Water* (PW) steril. Pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-5} , dan 10^{-7} diambil dan dipindahkan ke dalam medium *enrichment* 10 ml SC (*Selenite Cystine Broth*) (steril, dinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam). Hasil *enrichment* ditanam menggunakan metode *spread plate* pada media selektif XLD Agar (*Xylose Lysine Desoxycholate*) (steril, diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam). Koloni *Salmonella spp.* yang tumbuh dilakukan perhitungan serta pengamatan pertumbuhan bakteri. Permurnian bakteri dengan menggunakan teknik penggoresan kuadran pada media XLD agar kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Target permurnian adalah koloni yang mempunyai morfologi koloni yang berbeda dan berwarna hitam mengkilat, selanjutnya dipilih 3 jenis koloni dominan yang umumnya tumbuh pada media XLD secara duplo sehingga diperoleh 84 isolat. Setelah dilakukan pemurnian, dihasilkan sebanyak 23 isolat tunggal yang berasal dari kulit, daging dan visera ayam di Mertojoyo dan Sawojajar untuk dilakukan karakterisasi koloni. Hasil pemurnian isolat yang diduga *Salmonella spp.* yang akan diuji tersebut kemudian disimpan pada NA miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian disimpan pada

suhu -20°C sebagai *stock culture*. Setelah dilakukan karakterisasi, isolat murni *Salmonella spp.* dilakukan penyimpanan pada suhu -80°C dengan penambahan gliserol 60% 1:1.

4.5.2 Karakterisasi *Salmonella spp.*

Karakterisasi isolat *Salmonella spp.* dilakukan bertujuan untuk mengetahui sifat morfologi, biokimia dan serologis terhadap morfologi yang berpedoman SNI 2897: 2008 dan *Cowan and Steel's Manual for the identification of medical bacteria* (Barrow & Feltham, 1993). Sifat morfologi yaitu pengamatan morfologi koloni dan morfologi sel yaitu pewarnaan Gram. Karakterisasi secara biokimia yang dilakukan antara lain: uji TSIA, *urease*, *methyl red*, *citrate*, uji fermentasi gula (*phenol red lactose broth*, *phenol red sucrose broth*, *phenol red maltose broth*, *phenol red manitol broth*), katalase dan oksidase, sedangkan karakterisasi secara serologi yang dilakukan uji *polyvalent somatic O*, langkah kerja melakukan uji tersebut dapat dilihat pada lampiran 2. Isolat yang diduga *Salmonella spp.* berdasarkan nilai uji *similaritas* menggunakan metode UPMGA (*Unweighted pair group method using arithmetic averages*) untuk mengetahui jarak kedekatan antar cluster.

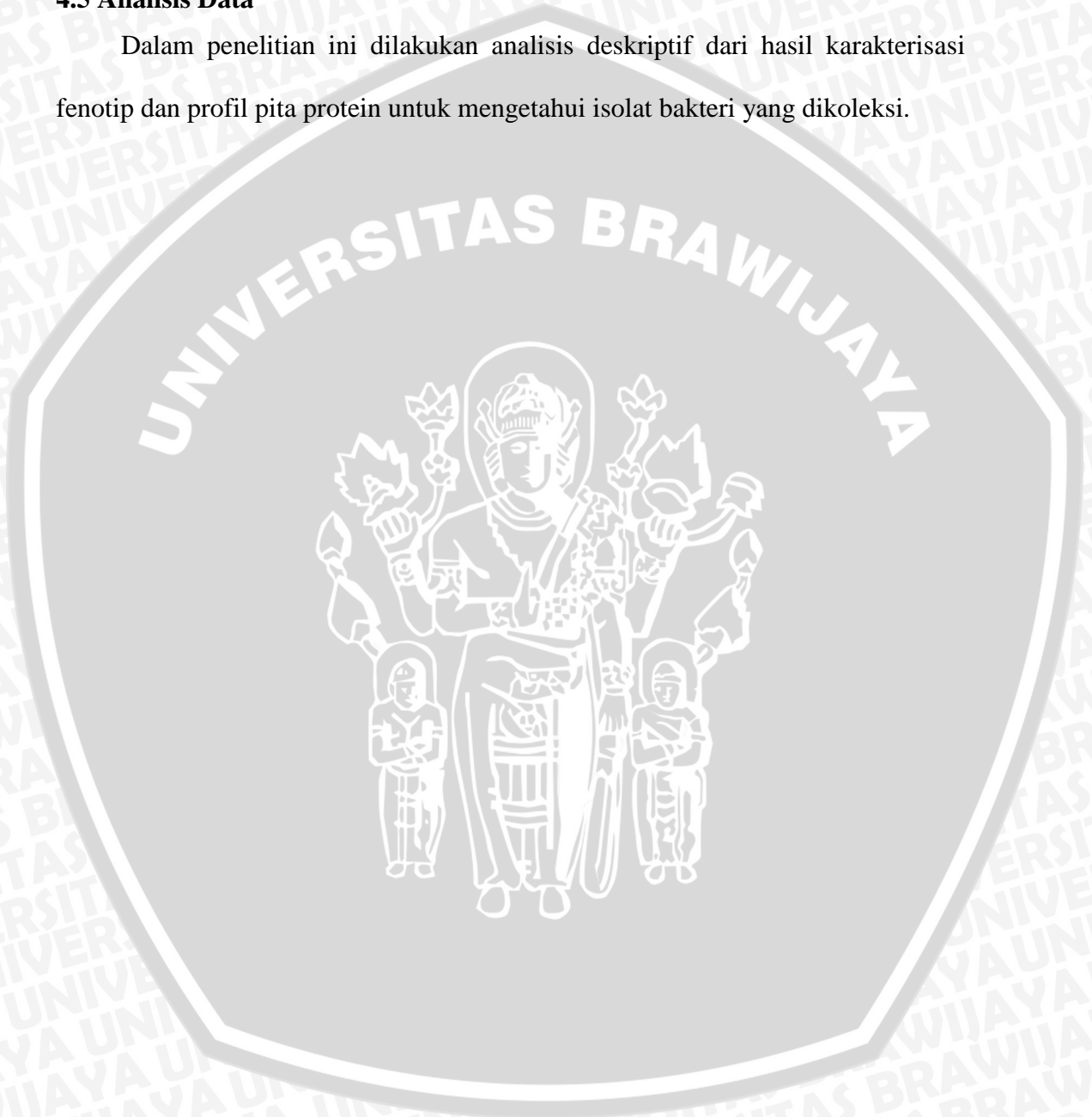
4.5.3 Analisa Profil Pita Protein *Salmonella spp.* menggunakan SDS-PAGE (Nakamura, *et al.*, 2002)

Analisa SDS-PAGE dilakukan untuk mendukung hasil karakterisasi fenotip isolat *Salmonella spp.* Isolat bakteri yang akan dianalisa profil pita protein menggunakan SDS-PAGE dipilih secara representatif berdasarkan *uji similaritas*. Analisa profil pita protein diawali dengan isolasi protein bakteri, elektroforesis SDS-PAGE dan analisa profil pita protein berdasarkan berat molekul pada

electrophoregrams. Langkah kerja analisa profil pita protein *Salmonella spp.* dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.5 Analisis Data

Dalam penelitian ini dilakukan analisis deskriptif dari hasil karakterisasi fenotip dan profil pita protein untuk mengetahui isolat bakteri yang dikoleksi.



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Jumlah Koloni *Salmonella spp.* Asal Karkas dan Visera Asal Penjual Ayam

Data *Total Plate Count* (TPC) berdasarkan perhitungan *Standart Plate Count* (SPC) secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil rerata jumlah *Salmonella spp.* (cfu/ml) pada sampel daging, kulit dan visera ayam yang berasal dari penjual ayam Mertojoyo dan Sawojajar disajikan dalam Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Rerata Koloni *Salmonella spp.* asal Karkas dan Visera Ayam

Penjual Ayam	Rerata Jumlah Koloni <i>Salmonella spp.</i> (cfu/ml)*		
	(M) Daging	(K) Kulit	(V) Visera
Mertojoyo	$7,9 \times 10^8 \pm 3,49$	$9,9 \times 10^8 \pm 8,21$	$1,05 \times 10^9 \pm 9,62$
Sawojajar	$3,4 \times 10^8 \pm 9,95$	$6,0 \times 10^8 \pm 0,98$	$8,0 \times 10^8 \pm 13,23$

*Rerata jumlah *Salmonella spp.* dihitung dari duplikat sampel yang ditanam pada duplikat cawan dengan 3 ulangan.

Dari tabel 5.1. dapat dijelaskan bahwa jumlah rerata koloni *Salmonella spp.* asal penjual ayam di Mertojoyo dan di Sawojajar pada sampel daging, kulit dan visera ayam, memiliki tingkat cemaran *Salmonella spp.* yang tinggi. Tingkat cemaran *Salmonella spp.* pada penjual ayam di Mertojoyo lebih tinggi daripada di Sawojajar karena penanganan karkas dan visera di Sawojajar lebih higienis dan kondisi penjual ayam di Sawojajar yang kebersihannya lebih terjaga (Lampiran 4). Hal ini sesuai dengan pernyataan Fries, (2002) and Berndtson, *et al* (2004), bahwa tempat dan penjual ayam yang kurang menjaga kebersihan dapat menyebabkan cemaran *Salmonella spp.*

Pada tingkat cemaran *Salmonella spp.* pada daging tinggi, ini dikarenakan kemungkinan penjual ayam melakukan pembersihan daging menggunakan air yang kurang bersih yaitu air yang digunakan berkali-kali dalam membersihkan

daging. Selain itu, dan tempat penjualan ayam yang kurang bersih karena penjualan dilakukan dalam keadaan terbuka dan penjualan daging sering dilakukan dengan cara dipotong menjadi bagian-bagian kecil, serta tidak disimpan dengan cara dibekukan. Adapun sikap konsumen yang biasanya memilih daging ayam dengan cara menyentuh daging tersebut sehingga mudah terkontaminasi dan kurang higienisnya peralatan yang digunakan saat menangani karkas ayam. Menurut Jay, *et al* (2005), faktor utama yang diduga dapat memungkinkan terjadinya cemaran *Salmonella spp.* pada daging adalah air yang digunakan untuk mencuci karkas telah kotor karena telah digunakan berkali-kali dalam mencuci. Selain itu, proses penyajian tempat penjual daging yang dipersiapkan oleh pedagang tidak ditutup dan tidak disimpan dalam suhu dingin dapat mengakibatkan perkembangbiakan bakteri secara cepat (Sa'idah, dkk., 2011). Selain itu, menurut Setiowati, dkk. (2011), pemotongan daging menjadi bagian-bagian kecil (potongan eceran) akan memperluas daerah permukaan yang terkontaminasi mikroba karena mikroba pada permukaan potongan lebih mudah mendapat makanan, air, dan oksigen sehingga mikroba lebih cepat berkembangbiak dan daging lebih mudah rusak.

Pada penelitian ini, didapatkan hasil tingkat cemaran *Salmonella spp.* pada kulit lebih tinggi daripada daging ayam. Hal ini karena permukaan kulit ayam bersentuhan langsung dengan meja penjual sehingga kulit ayam dapat dengan mudah terkontaminasi oleh *Salmonella spp.* Selain itu, kulit ayam juga lebih rentan terhadap kontaminasi silang oleh peralatan yang kurang higienis seperti pisau dan talenan yang digunakan terbuat dari kayu sehingga meskipun peralatan tersebut telah dicuci, sisa kotoran masih ada yang tersisa walaupun secara kasat

mata tidak terlihat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Firstenberg-Eden, *et al* (2000), kulit ayam merupakan salah satu permukaan paling baik dalam perkembangbiakan bakteri karena media yang sering terjadi kontaminasi silang dari peralatan dan tempat peletakkan karkas.

Adapun hasil penelitian ini ditemukan tingkat cemaran *Salmonella spp.* pada visera lebih tinggi daripada daging dan kulit hal ini karena *Salmonella spp.* memiliki habitat utama di saluran pencernaan sehingga apabila pada proses eviserasi dan pencucian visera kurang bersih, maka *Salmonella spp.* akan mencemari visera tersebut. Selain itu, cemaran *Salmonella spp.* pada visera asal penjual ayam di Mertojoyo lebih tinggi daripada di Sawojajar karena proses penanganan khususnya penjual ayam di Mertojoyo yang kurang higienis dalam membersihkan visera yaitu meletakkannya pada lantai dan terdapat banyak kotoran di sekitar wadah penyimpanan sedangkan penjual ayam di Sawojajar proses penanganan dan pembersihan visera diletakkan di dalam wadah yang bersih. Hal ini sesuai dengan pernyataan Jay, *et al* (2005), pencemaran pada visera disebabkan penanganan yang kurang higienis, dan kondisi penyimpanan pada udara terbuka menyebabkan pertumbuhan total mikroba patogen yang tinggi seperti *Salmonella spp.*

Dari hasil penelitian, diperoleh data rerata cemaran koloni *Salmonella spp.* pada karkas dan visera ayam di Mertojoyo maupun Sawojajar tidak sesuai dengan standar maksimum cemaran mikroba *Salmonella spp.* dalam produk ayam mentah yang telah ditetapkan dalam SNI 01-6366-2000, yaitu negatif. Jika mengacu pada peraturan ini, maka kualitas karkas dan visera ayam tersebut sudah tergolong buruk. Kondisi ini sudah dalam ambang yang membahayakan konsumen. Namun,

proses pemasakan dan pemanasan suhu pasteurisasi yaitu 66°C selama 60 menit atau 70°C selama 6 menit dalam penyajian produk olahan ayam dapat menurunkan cemaran mikroba menjadi 10^3 cfu/g sampai negatif terhadap *Salmonella spp.* (Keswandari, 2000).

5.2 Isolasi dan Karakterisasi *Salmonella spp.* pada Karkas dan Visera Ayam

Isolasi *Salmonella spp.* dilakukan 3 pengulangan menggunakan media XLD secara duplo. Isolasi ini didapatkan 84 koloni yang memiliki morfologi koloni yang berbeda. Hasil pengamatan karakteristik morfologi koloni *Salmonella spp.* dapat dilihat pada Lampiran 5. Masing-masing isolat bakteri memiliki karakteristik bentuk, tepi dan ukuran yang berbeda, hal ini menurut penelitian Ngwai, *et al* (2005), dikarenakan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh kemampuan menghasilkan produk metabolisme dari bakteri, nutrisi dari medium pertumbuhan dan masa inkubasi.

Setelah pengamatan morfologi koloni terhadap 84 koloni, maka dilakukan pemurnian terhadap koloni isolat *Salmonella spp.* berdasarkan morfologi koloni yang berbeda pada masing-masing sampel. Pemurnian dihasilkan sebanyak 23 isolat bakteri yang dipilih berdasarkan kemampuan isolat tumbuh pada media. Pengujian berikutnya dilakukan berdasarkan SNI 2897: 2008 dan *Manual for the Identification of Medical Bacteria* (Barrow dan Feltham, 1993) dalam mengkarakterisasi isolat untuk mengetahui genus isolat berdasarkan sifat morfologi koloni, biokimia, dan serologis. Hasil karakterisasi morfologi koloni terhadap 23 isolat, dilakukan dengan pewarnaan Gram dimana sebanyak 23 isolat bakteri menunjukkan Gram negatif dan morfologi sel berbentuk *Bacillus* (batang) pendek dan berwarna merah. Dari hasil pengamatan mikroskopis ini diduga

koloni tersebut adalah koloni *Salmonella spp.* Hal ini sesuai dengan pendapat White, *et al* (2000), yang menyatakan bahwa *Salmonella spp.* merupakan bagian dari bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek dan termasuk famili Enterobacteriaceae. Bentuk morfologi isolat *Salmonella spp.* dapat dilihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1. Morfologi isolat *Salmonella spp.* berbentuk batang perbesaran 100x menggunakan mikroskop cahaya

Menurut Adams and Moss (2000), konfirmasi koloni spesifik *Salmonella spp.* dilakukan melalui uji biokimia dan serologi dengan adanya reaksi aglutinasi polyvalent O antisera. Uji biokimia dan serologis terhadap karakterisasi *Salmonella spp.* menurut SNI 2897: 2008 dan *Manual for the Identification of Medical Bacteria*, yang dilakukan adalah uji katalase, oksidase, TSIA, urease, MR, citrate, dan fermentasi gula. Pengujian ini akan menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki karakteristik yang berbeda. Hasil pengamatan hasil karakterisasi *Salmonella spp.* dapat dilihat pada Lampiran 6 dan Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hasil pengamatan karakterisasi *Salmonella spp.*

No	Kode Isolat	Karakteristik Fenotip												Keterangan
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	K ₁ B ₁	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
2	K ₁ B ₂	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
3	K ₁ B ₃	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
4	K ₁ A ₁	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
5	K ₁ A ₂	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
6	V ₂ B ₁	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
7	V ₂ B ₂	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
8	V ₂ B ₃	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
9	V ₁ A ₁	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
10	V ₁ A ₂	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
11	V ₁ A ₃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
12	M ₂ B ₁	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
13	M ₂ B ₂	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
14	M ₁ C ₁	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
15	M ₁ C ₂	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
16	M ₁ C ₃	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
17	M ₁ C ₄	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
18	M ₁ A ₁	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
19	M ₁ A ₂	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
20	M ₁ B ₁	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
21	K ₂ C ₁	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
22	V ₁ C ₁	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	<i>Salmonella spp.</i>
23	V ₁ C ₂	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-

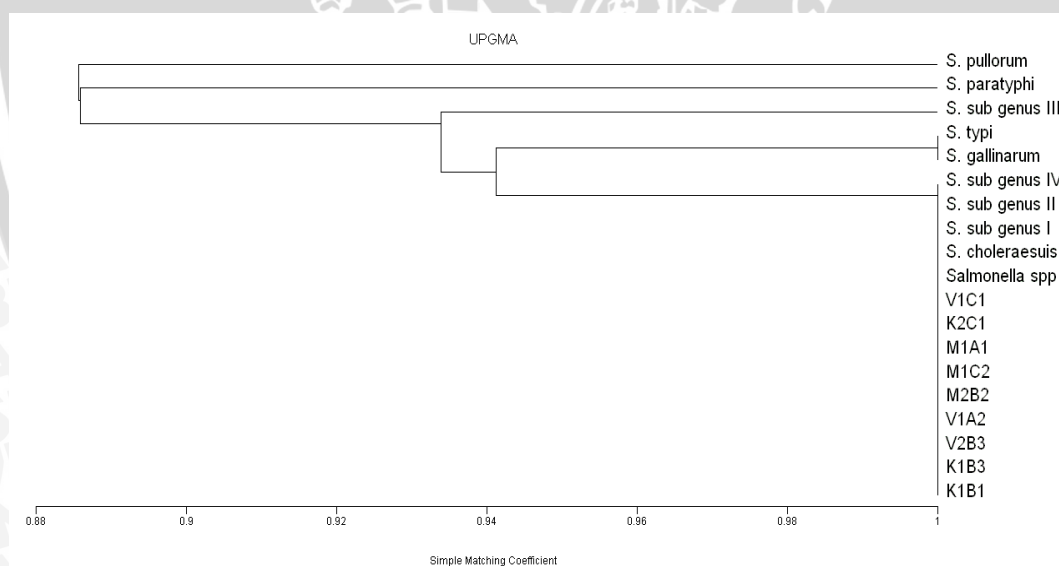
Keterangan: Reaksi positif (+); Reaksi negatif (-)

K₁: kulit ayam di Mertojoyo, K₂: kulit ayam di Sawojajar, M₁: daging ayam di Mertojoyo, M₂: daging ayam di Sawojajar, V₁: visera ayam di Mertojoyo, V₂: visera ayam di Sawojajar, A,B,C: jenis koloni

(1) Suhu 37°C, (2) uji TSIA, (3) uji Urease, (4) uji MR, (5) uji Citrate, (6) uji Phenol Red Lactose Broth, (7) uji Phenol Red Sucrose Broth, (8) uji Phenol Red Maltose Broth, (9) uji Phenol Red Maltose Broth, (10) uji Oksidase, (11) uji Katalase, (12) uji Polyvalent Somatic O

Hasil karakterisasi *Salmonella spp.* terhadap 23 isolat, didapatkan 9 isolat yaitu K₁B₁, K₁B₃, V₂B₃, V₁A₂, M₂B₂, M₁C₂, M₁A₁, K₂C₁, V₁C₁ yang memiliki karakter genus *Salmonella spp.* *Salmonella spp.* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek (White, *et al.*, 2000), TSIA positif, urease negatif, MR positif, citrate positif, oksidase negatif (Lee, *et al.*, 2003), laktosa dan sukrosa negatif (Mirmomeni, *et al.*, 2009 dan Jawet'z, 2005), maltosa dan manitol positif serta polyvalent somatic O positif (Adams and Moss, 2000).

Dari hasil pengamatan karakterisasi *Salmonella spp.* pada Tabel 5.2. akan dilakukan pendugaan isolat menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average (UPGMA)* untuk mengetahui nilai *similaritas* isolat hasil isolasi dengan isolat acuan yang disajikan dalam bentuk fenogram. Metode ini dilakukan berdasarkan hasil karakterisasi morfologi bakteri, uji biokimia dan uji serologis yang diperoleh. Menurut Acik, *et al* (2005), hasil analisa UPGMA merupakan kombinasi mempermudah pengelompokan dalam menganalisis profil pita protein menggunakan SDS-PAGE. Nilai *similaritas* mendekati 1 menunjukkan bahwa ada kemungkinan isolat tersebut dari Genus dan Spesies yang sama. Berikut Gambar 5.2. merupakan fenogram hasil pengamatan karakterisasi isolat *Salmonella spp.* hasil *similaritas* terhadap 9 isolat:



Gambar 5.2. Fenogram hasil pengamatan isolat bakteri

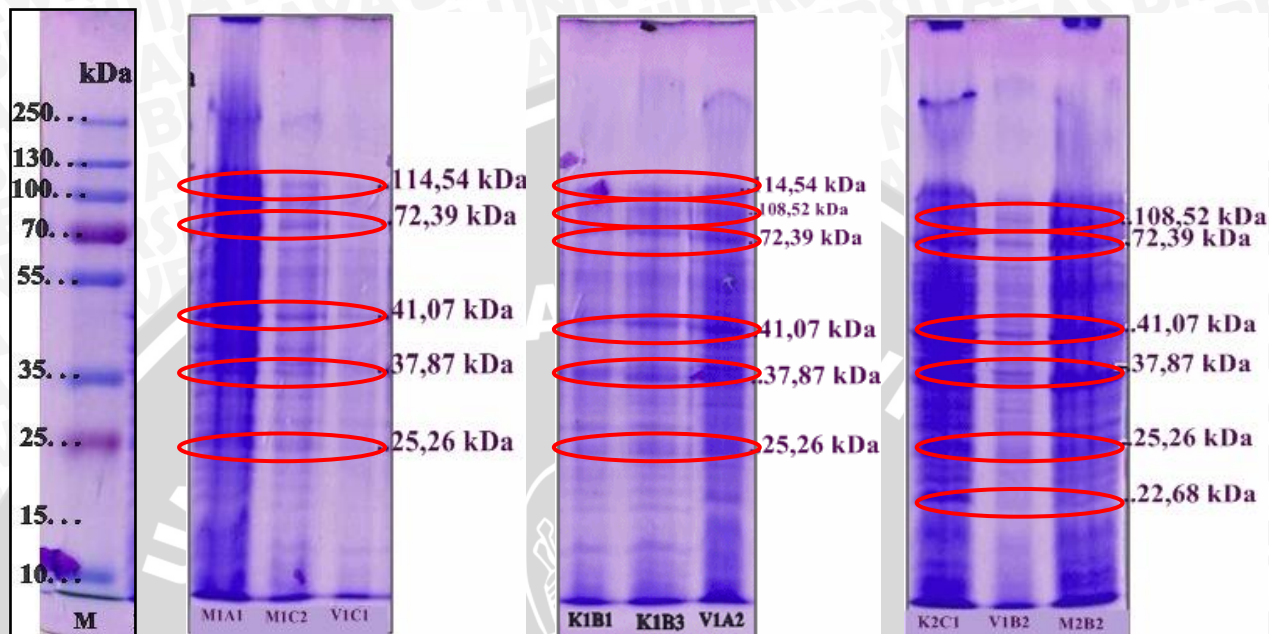
Gambar 5.2. menunjukkan dari 9 isolat hasil isolasi yang terkoleksi dapat dikelompokkan ke dalam 1 Genus dan Spesies. Kelompok tersebut mendekati

Genus *Salmonella* spp., *Salmonella* sub. Genus IV (*Salmonella houtenae*), *Salmonella* sub. Genus II (*Salmonella salamae*; *Salmonella dar-es-salaam*), *Salmonella* sub. Genus I (*Salmonella kauffmannii*; *Salmonella enterica*; *Salmonella enteritidis*), dan *Salmonella choleraesuls* yang terdiri dari isolat V₁A₂, V₂B₃, V₁C₁, K₁B₁, K₂C₁, K₁B₃, M₁A₁, M₂B₂, M₁C₂. Data nilai *simililaritas* tersebut menunjukkan dari 9 isolat asal karkas dan visera ayam didominasi oleh *Salmonella* sub genus I yaitu *Salmonella enteritidis*. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Cogan, *et al* (2004); Nayak, *et al* (2004); Grijspeerdt, *et al* (2005); Sadeyen, *et al* (2006) bahwa karkas ayam yang sebagian dikonsumsi, teridentifikasi pencemaran oleh serotipe utama *Salmonella enteritidis* yang termasuk pada golongan *Salmonella* sub genus I.

5.3. Analisa Pita Protein *Salmonella* spp.

Hasil analisa pita profil protein dipilih 9 isolat representatif sesuai dengan uji biokimia dan uji serologis berpedoman SNI 2897:2008 dan *Manual for the Identification of Medical Bacteria* serta hasil nilai *similaritas* yang menunjukkan hasil mendekati *Salmonella* spp. Dalam menganalisa pita protein, digunakan SDS-PAGE dimana menurut pendapat Durrani, *et al* (2008), SDS-PAGE merupakan teknik molekular yang penting untuk mengidentifikasi level spesies profil protein untuk klasifikasi serta perbandingan terhadap bakteri lain. Beberapa penelitian tentang serotipe *Salmonella* juga menggunakan SDS-PAGE untuk mengevaluasi *whole cell lysate* telah dilaporkan oleh Nakamura, *et al* (2002); Acik, *et al* (2005); Ngwai, *et al* (2005); Begum, *et al* (2008); dan Hassanain, (2008). Hasil *running* dengan gel elektroforensis untuk mendeteksi berat molekul dan jumlah pita

terhadap 9 isolat *Salmonella* dapat dilihat pada Gambar 5.3. dan Tabel 5.4. yang merupakan profil pita protein dari 9 isolat melalui SDS-PAGE:



Gambar 5.3. Profil Pita Protein isolat *Salmonella spp.* menggunakan SDS-PAGE
Keterangan: M: Marker; M₁ dan M₂: daging; V₁: visera; dan K₁: kulit

Tabel 5.3. Karakterisasi Isolat *Salmonella spp.* berdasarkan Berat Molekul Pita Protein Hasil SDS-PAGE dengan satuan kDa

M ₁ A ₁	M ₁ C ₂	V ₁ C ₁	K ₁ B ₁	K ₁ B ₃	V ₁ A ₂	K ₂ C ₁	V ₂ B ₃	M ₂ B ₂
114,54	114,54	114,54	114,54	114,54	114,54	-	-	-
-	-	-	108,52	108,52	108,52	-	-	-
72,39	72,39	72,39	72,39	72,39	72,39	72,39	72,39	72,39
41,07	41,07	41,07	41,07	41,07	41,07	41,07	41,07	41,07
37,87	37,87	37,87	37,87	37,87	37,87	37,87	37,87	37,87
25,26	25,26	25,26	25,26	25,26	25,26	25,26	25,26	25,26
-	-	-	-	-	-	22,68	22,68	22,68

Data hasil *running* dengan elektroforesis terhadap 9 isolat yang terkoleksi, dapat dideteksi berat molekul pita protein masing-masing isolat yang berkisar 22,68 kDa sampai 114,54 kDa yang terdapat pada Lampiran 7 dan Lampiran 8. Pada penelitian ini, profil pita protein ini yang terdeteksi disemua 9 isolat *Salmonella* yaitu sebesar 41,07 kDa, 37,87 kDa dan 25,26 kDa. Berat pita protein

tersebut umumnya banyak ditemukan pada semua serotipe *Salmonella* menggunakan SDS-PAGE (Erbal *et al.*, 2003, and Ramos *et al.*, 2003). Menurut penelitian Begum, *et al* (2008), berat molekul pita protein semua serotipe *Salmonella* adalah 37,81 kDa hal ini tentu memiliki kemiripan karakter yang hampir sama yang dimiliki 9 isolat dugaan *Salmonella* yang diteliti yaitu 37,87 kDa sedangkan menurut Aksakal (2010), berat molekul pita protein 41,5 kDa dan 25,4 kDa dapat ditemui pada semua serotipe *Salmonella* yang memiliki kemiripan hampir sama dengan berat molekul 9 isolat yang diteliti.

Dari hasil SDS-PAGE pada Tabel 5.4 memperlihatkan berat molekul protein masing-masing isolat sama, yaitu 72,39 kDa. Menurut penelitian Nakamura, *et al* (2002), *S. enteritidis* memiliki berat molekul protein sebesar 71,4 kDa, 67,7 kDa dan 30,3 kDa. Pada isolat yang diteliti memperlihatkan berat molekul protein sebesar 72,39 kDa memiliki kemiripan yang hampir sama dengan berat molekul protein yang dimiliki oleh *Salmonella enteritidis*. Hal tersebut sesuai dengan karakteristik fenotip isolat *Salmonella spp.* ke dalam genus yang sama.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dalam penelitian ini adalah:

1. Adanya cemaran *Salmonella spp.* pada daging, kulit dan visera asal penjual ayam di Mertojoyo dan di Sawojajar yaitu sebesar $> 10^8$ cfu/ml telah melebihi batas maksimum cemaran yang telah ditetapkan dalam SNI 01-6366-2000, yaitu negatif.
2. Isolat *Salmonella spp.* memiliki kesamaan berat molekul pita protein yang berkisar 37,87 kDa yang dapat ditemukan pada semua serotipe *Salmonella* dan 72,39 kDa yang memiliki kemiripan yang hampir sama dengan berat molekul pita protein *S. enteritidis*.

6.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap isolasi dan karakterisasi *Salmonella* yang telah ditemukan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)* untuk mengetahui karakterisasi jenis *Salmonella spp.* dengan primer spesifik.
2. Diperlukan monitoring secara periodik untuk mengetahui tingkat cemaran *Salmonella spp.* pada karkas dan visera asal penjual ayam di Kota Malang.
3. Perlu tindakan untuk mengurangi cemaran *Salmonella spp.* pada karkas dan visera asal penjual ayam di Kota Malang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdellah, C., R. F. Fouzia, C. Abdelkader, S. Bencheikh, Rachida, and Z. Mouloud. 2009. *Prevalence and anti-microbial susceptibility of Salmonella isolates from chicken carcasses and giblets in Meknès, Morocco*. Afri. J. of Microbiol. Res. Vol. 3(5): 215-219.
- Acik L., A. Temiz, A. Celebi, S. Arslan, and R. Yilmaz. 2005. *Protein patterns and plasmid profiles of the bacterial strains isolated from a poultry slaughterhouse in Ankara, Turkey*. Food Technol. and Biotechnol. 43: 255–262.
- Adams, M. R., and M. O. Moss. 2000. *Food Microbiology Second Edition*. University of Surrey. Guildford UK.
- Aksakal, A. 2010. *Analysis of whole cell protein profiles of Salmonella serovars isolated from chicken, turkey and sheep faeces by SDS-PAGE*. Vet. Med. 55 (6): 259–263.
- Andriani, M., Sudarwanto, dan D. W. Lukman. 2000. *Dekontaminasi Salmonella spp. pada Karkas Ayam Menggunakan Asam Organik dan Klorin*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anonimous. 2000. *Standart Nasional Indonesia*. SNI 01-6366-2000.
- Anonimous. 2002. *World Health Organization: Risk assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens*. In : *Microbiological risk assessment series 1*. Food and Agricul. Org. of the United Nation . pp. 1-41.
- Anonimous. 2008. *Standart Nasional Indonesia*. SNI 2897:2008.
- Ariyanti, T., dan Supar. 2005. *Peranan Salmonella enteritidis pada Ayam dan Produknya*. WART.4ZOA Vol. 15 No. 2 Th. 2005.
- Baeumler, A.J., B. M. Hargis, and R. M. Tsoilis. 2000. *Tracing the Origins of Salmonella Outbreaks*. Sci. 287: 50-52.
- Bailey, J.S., B. W. Mitchell, R. J. Buhr, M. E. Berrang, and N. A. Cox. 2002. *Reducing airborne pathogens, dust and Salmonella transmission in experimental hatching cabinets using an electrostatic space charge system*. Poult. Sci. 81: 49-55.
- Barrow, G.I., and R. K. A. Feltham. 1993. *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria Third Edition*. Syndicate of the University of Cambridge: United Kingdom.

- Begum, F., Y. Adachi, and M. S. R. Khan. 2008. *Characterization of Salmonella serovars in comparison with some Enterobacteria by SDS-PAGE analysis*. Bangladesh J. of Vet. Med. 6: 169–174.
- Bennasar, A., G. de Luna, B. Cabrer, and J. Lalucat. 2000. *Rapid identification of Salmonella typhimurium, S. enteritidis and S. virchow isolates by polymerase chain reaction based fingerprinting methods*. Int. Microbiol. 3(1): 8-31.
- Berndtson, E., M. L. Danielsson-Tham, and A. Engvall. 2004. *Salmonella incidence on a chicken farm*. Int. J. Food Microbiol. 32: 35-47.
- Carli, K. T., C. B. Unal, V. Caner, and A. Eyigor. 2001. *Detection of Salmonellae in Chicken Feces by a Combination of Tetrathionate Broth Enrichment, Capillary PCR, and Capillary Gel Electrophoresis*. J. Clin. Microbiol. 39: 1871-1876.
- Cerro, A., S. M. Soto, and M. C. Mendoza. 2002. *Virulence and Antimicrobial-resistance Gene Profiles Determined by PCR-based Procedures for Salmonella Isolated from Samples of Animal Origin*. Food Microbiol. 20(4): 421-438.
- Cogan, N. O, M. T. Abberton, K. F. Smith, G. Kearney, A. H. Marshall, A. Williams, T. P. Michaelson-Yeates, C. Bowen, E. S. Jones, A. C. Vecchies, and J. W. Forster. 2006. *Individual and multi-environment combined analyses identify QTLs for morphogenetic and reproductive development traits in white clover (Trifolium repens L.)*. Theor. Appl. Genet. 112:1401–1415.
- Cohen, N., H. Ennaji, B. Bouchrif, M. Hassar, and H. Karib. 2007. *Comparative Study of Microbiological Quality of Raw Poultry Meat at Various Seasons and for Different Slaughtering Processes in Casablanca (Morocco)*. J. Appl. Poult. Res. 16: 502–508.
- Dartini N. L., A. A. G. Putra, G. Kertayadnya, dan A. A.,Dewi. 2003. *Tingkat Cemaran Cemaran Bakteri Salmonella sp pada Daging Ayam dan Hati Ayam di DKI Jakarta*. Prosiding PPI Standardisasi 2011 – Yogyakarta, 14 Juli 2011.
- Davies, R.H., and C. Wray. 2000. *Persistence of Salmonella enteritidis in poultry units and poultry food*. Br. Poult. Sci. 37: 589-596.
- Dominguez, C., L. Gomez, and J. Zumalacarregui. 2002. *Prevalence of Salmonella and Campylobacter in Retail Outlet in Spain*. Int. J. Food Microbiol. 72(1): 165-168.

- Durrani R., M. Abubakar, M. J. Arshed, S. Saleha, I. Ullah, and Q. Ali. 2008. *Biological characterization and protein profiles of two model bacteria by SDS-PAGE and FT-IR*. J. of Agr. and Biol. Sci. 3: 6–16.
- Erbal, P. J. A., K. Barr, N. Gao, J. G. Gerwig, P. D. Rick, and K. H. Gardner. 2003. *Identification and biosynthesis of cyclic enterobacterial common antigen in Escherichia coli*. J. of Bacteriol. 185: 1995-2004.
- Ferretti, R., L. Mannazzu, L. Cocolin, G. Comi, and F. Clementi. 2001. *Twelve-hours PCR-Based Method for Detection of Salmonella spp.* In food. Appl. Environ. Microbiol. 74: 977-978.
- Firstenberg-Eden, R. 2000. *Attachment of bacteria to meat surfaces: a review*. J. Food Prot. 44: 602–607.
- Forsythe, S. J., and P. R. Hayes. 2000. *Food Hygiene, Microbiology and HACCP Third edition*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Fries, R. 2002. *Reducing Salmonella transfer during industrial poultry meat production*. World's Poultry Sci. J. 58: 527-540.
- Garcia-del Portillo, F. G. 2001. *Salmonella intracellular proliferation: where, when, and how?* Microbes Infect. 3: 1305–1311.
- Grijpspeerdt, K. 2005. *Modeling the penetration and growth of bacteria in eggs*. Food Control. 12: 7-11.
- Gyles, C. L., J. F. Prescott, J. G. Songer, and C. O. Thoen. 2004. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals Third Edition*. Blackwell Publishing Professional. USA.
- Hassanain, N. A. 2008. *Detection of antibodies against zoonotic food borne pathogens in sera of food handlers*. Global Vet. 2: 285–289.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi: Menguak dunia mikroorganisme (Jilid 1 dan 2)*. Yrama Widya. Bandung.
- Jarquín, R., I. Hanning, S. Ahn, and S. C. Ricke. 2009. *Development of Rapid Detection and Genetic Characterization of Salmonella in Poultry Breeder Feeds*. ISSN 1424-8220.
- Jawet'z. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Jay, J. M., M. J. Loessner, and D. A. Golden. 2005. *Modern Food Microbiology 7th edition*. Springer Science: Business Media. New York.

- Lee, L. A., V. L. Threatt, N. D. Puhr, P. Levine, K. Ferris, and R. V. Tauxe. 2003. *Antimicrobial-resistant Salmonella spp. Isolated from healthy broiler chickens after slaughter*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 202: 752–755.
- Libby, S. J., T. A. Halsey, C. Altier, J. Potter, and C. L. Gyles. 2004. *Salmonella*. Blackwell Publishing Professional. USA.
- Mirmomeni, M. H., S. Naderi, C. A. Hosseinzadeh, and S. Sisakhtnezad. 2009. *Isolation of Salmonella enteritidis using biochemical tests and diagnostic potential of SdfI amplified gene*. Res. J. of Bio. Sci. 4(6): 656-661.
- Nakamura, A., Y. Ota, A. Mizukami, T. Ito, Y. B. Ngwai, and Y. Adachi .2002. *Evaluation of aviguard, a commercial competitive exclusion product for efficacy and after effect on the antibody response of chickes of Sallmonella*. Poult. Sci. 81: 1653–1660.
- Nayak, S. C., S. K. Sahu, G. C. Mishra, and B. Sandha. 2004. *Comparison of defferent amendments for alleviating iron toxicity*. Int. J. Res. 29: 51-53.
- Ngwai, Y. B, K. Ochi, Y. Ogawa, and Y. Adachi. 2005. *Analysis of the protein profiles of the antibioticresistant Salmonella typhimurium definitive phage type (dt) 104*. Afr. J. of Biotechnol. 4: 727–737.
- Patrick, R., Murray, K. S. Rosenthal, and A. P. Michael. 2005. *Medical Microbiology*. 5th ed. Elsevier Mosby. pp. 17-22.
- Portillo, F. G. 2000. *Molecular and cellular biology of Salmonella pathogenesis*. pp. 3-34. United States of America: Technomic Publishing Company, Inc.
- Ramos F., A. I. Prieto, C. R. Beuzon, D. W. Holden, and J. Casadesus. 2003. *Role of Salmonella enterica enterobacterial common antigen in bile resistance and virulence*. J. of Bacteriol. 185: 5328-5332.
- Ruban, S. W., M. Thiyageeswaran, and R. Sharadha. 2010. *Isolation and Identification of Salmonella spp from Retail Chicken Meat by Polymerase Chain Reaction*. Int. J. of Microbiol. Res. 1 (3): 106-109.
- Salehi, T. Z., M. Mahzounieh, and A. Saeedzadeh. 2005. *Detection of InvA Gene in Isolated Salmonella from Broilers by PCR Method*. Int. J. of Poult. Sci. 4 (8): 557-559.
- Sa'idah, F., S. Yusnita, dan I. Herlinawati. 2011. *Hasil Penelitian Cemaran Mikroba Daging Sapi di Pasar Swalayan dan Pasar Tradisional*. Dilavet. 21(2).

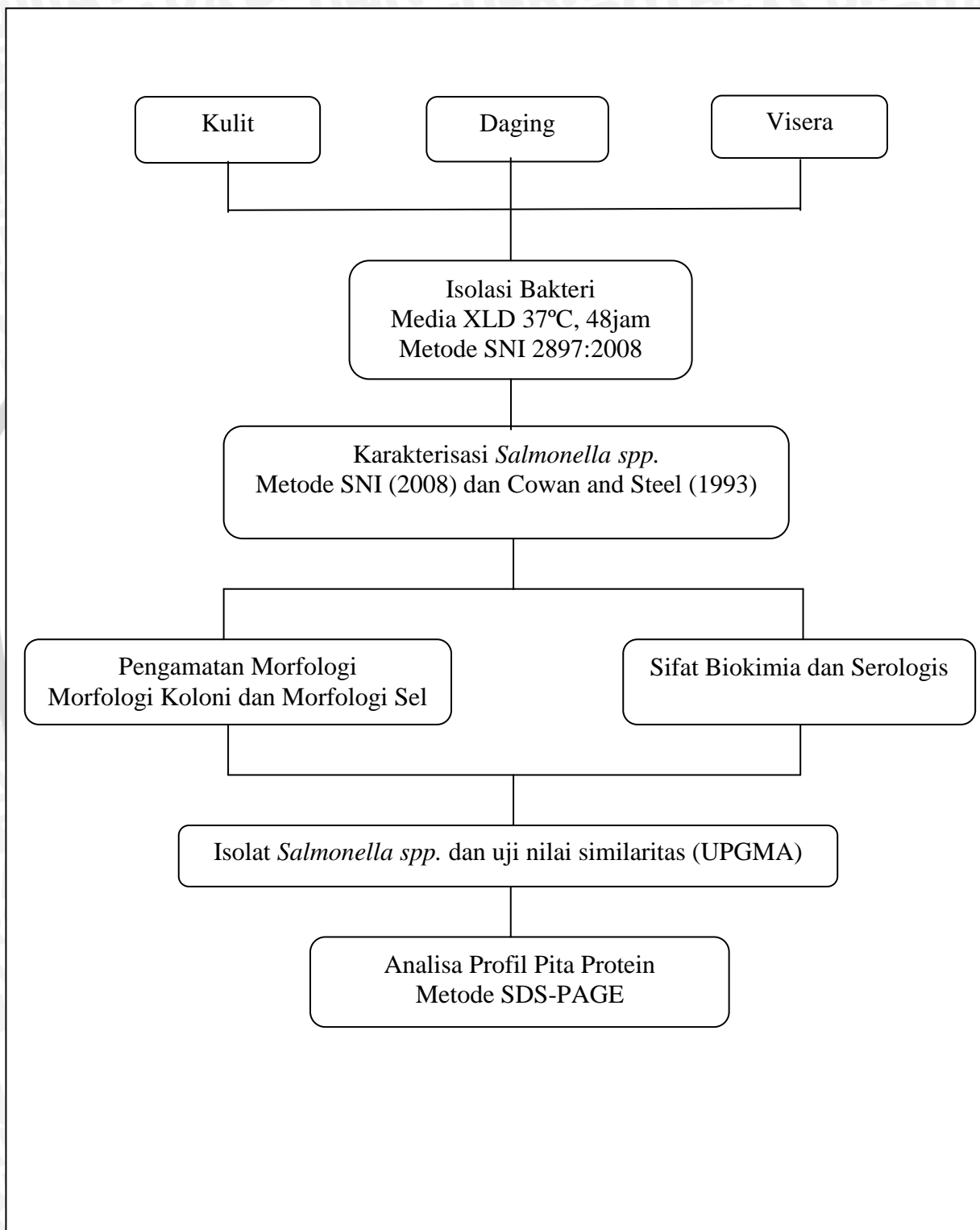
- Setiowati, W. E., E. N. Adoni, dan Wahyuningsih. 2011. *Mikroba, Residu Antibiotika Sulfa dan Pestisida pada Bahan Asal Hewan di Propinsi Bali, NTB dan NTT tahun 1996-2002*. Makalah Workshop Nasional.
- Suwandono, A.M., Destri, dan C. Simanjutak. 2005. *Salmonellosis dan Surveillans demam tifoid yang disebabkan Salmonella di Jakarta Utara*. Disampaikan dalam Lokakarya Jejaring Intelijen Pangan – BPOM RI, Jakarta, 25 Januari 2005.
- Svendsen, L., D. O'Brien, G. Stodulski, and J. Hau. 2000. *Use of chicken and exploitation of egg yolk antibody production*. Royal Society of Med. Press London. : 324-327.
- Todar, K. 2008. *Salmonella and Salmonellosis*. <http://www.textbookofbacteriology.net/salmonella>.
- White, P. L., A. R. Buker, and W. O. James. 2000. *Strategies to Control Salmonella and Campylobacter in Raw Poultry Product*. Res. Sci. Tech. Of Epi. 16 (2): 525-541.
- Yashoda, K. P., N. M. Sachindra, P. Z. Sakhare, and D. N. Rao. 2001. *Microbiological quality of broiler chicken carcasses processed hygienically in a small scale poultry processing unit*. J. Food Quality 24: 249-259.



LAMPIRAN

Lampiran 1

SKEMA KERJA PENELITIAN



Lampiran 2.

A. Langkah Kerja Pengujian Karakterisasi Isolat *Salmonella spp.*

1. Pengujian pewarnaan Gram

1) Persiapan sampel

- Objek glass dibersihkan menggunakan alkohol.
- Setetes akuades diletakkan di atas objek glass dan difiksasi di atas bunsen.
- Isolat bakteri dari NA miring diambil satu ose dan dicampurkan menggunakan akuades di objek glass kemudian diratakan, sehingga dihasilkan ulasan sangat tipis kemudian preparat difiksasi kembali agar dapat melekatkan bakteri pada objek glass.

2) Pewarnaan Gram

- Kristal violet diteteskan di atas preparat yang telah dibuat dan ditunggu selama 1 menit, kemudian preparat dicuci menggunakan akuades dan difiksasi.
- Larutan *iodine* atau lugol diteteskan di atas preparat dan ditunggu selama 1 menit, kemudian preparat dicuci menggunakan akuades dan difiksasi.
- Larutan aseton diteteskan di atas preparat dan ditunggu selama 30 detik, kemudian preparat dicuci menggunakan akuades dan difiksasi.
- Larutan safranin diteteskan di atas preparat dan ditunggu selama 1 menit, kemudian preparat dicuci menggunakan akuades dan difiksasi.

3) Pengamatan

- Preparat diamati di bawah mikroskop untuk melihat jenis Gram dan bentuk selnya. Indikasi pewarnaannya yaitu jenis bakteri Gram positif akan berwarna violet dan bakteri Gram negatif akan berwarna merah sedangkan bentuk dari sel apakah bulat (*coccus*), batang (*basil*), maupun bergelombang (*spiral*). Penggunaan mikroskop dengan pembesaran 1000x dengan minyak emersi yang ditambahkan di atas preparat.
- Gambar setiap preparat bakteri diamati menggunakan mikroskop dan diambil menggunakan foto digital.

2. Pengujian TSIA

1) Persiapan media dan sampel

- Media *Triple Sugar Iron Agar* dilarutkan dalam akuades dengan cara dipanaskan dan diaduk rata sampai homogen. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak ± 5 ml dan disterilkan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 Atm. Media yang telah steril, didinginkan dan dimiringkan hingga memadat.
- *Fresh culture* bakteri yang akan diuji disiapkan.

2) Penanaman sampel

- Satu ose kultur bakteri ditusuk ke dasar dan digores pada media miring TSIA.
- Tabung TSIA ditutup secara longgar kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3) Pengamatan pengujian

- Reaksi spesifik *Salmonella spp.* terjadi apabila pada permukaan TSIA terbentuk warna merah (reaksi basa), dan bagian dasar media berwarna kuning (reaksi asam), produksi gas, dengan atau tanpa produksi H₂S (kehitaman pada agar).

3. Pengujian urease

1) Persiapan media dan sampel

- Media pertumbuhan yang digunakan dalam pengujian *urease* tersusun atas urea 1 g, yeast ekstrak 0,005 g, phenol red 1,6% 0,5 ml, dan Na₂HPO₄ 0,005 g, kemudian dilarutkan ke dalam 50 ml akuades steril menggunakan wadah yang telah disterilkan terlebih dahulu.
- Setelah media larut, *urea broth* disaring menggunakan membranmilifilter steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak ± 5 ml.
- *Fresh culture* bakteri yang akan diuji disiapkan.

2) Penanaman sampel

- Koloni bakteri dari media TSIA diinokulasikan menggunakan ose ke dalam media *Urea Broth* dan diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 24 jam.

3) Pengamatan pengujian

- Interpretasi dari uji *urease* terhadap uji spesifik *Salmonella* adalah negatif yaitu tidak berubah warna atau berwarna merah.

4. Pengujian *methyl red*

1) Persiapan media dan sampel

- Media MR-VP yang telah dilarutkan dalam akuades dengan cara dipanaskan dan diaduk rata sampai homogen. Media yang telah larut dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak ± 5 ml kemudian disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 Atm.
- Reagen *methyl red* yang tersusun dari 0,005 g *methyl red* dicampurkan ke dalam 20 ml akuades steril pada wadah yang telah disterilkan. Larutan tersebut dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.
- *Fresh culture* bakteri yang akan diuji disiapkan.

2) Penanaman sampel

- Biakan dari media TSIA diambil dengan ose dan diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi media MR-VP serta diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 48 jam.

3) Pengamatan pengujian

- Biakan dari MR-VP yang telah diinkubasi, ditambahkan 5 sampai dengan 6 tetes indikator *methyl red* pada tabung. Interpretasi hasil *Salmonella* umumnya ditunjukkan dengan hasil positif yaitu ditandai dengan adanya difusi warna merah ke dalam media.

5. Pengujian citrate

1) Persiapan media dan sampel

- Media *Simmons Citrate Agar* (SCA) dilarutkan dalam akuades dengan cara dipanaskan dan diaduk rata sampai homogen. Media SCA yang telah larut, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak ± 5 ml dan disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 Atm. Media SCA yang telah steril, didinginkan dan dimiringkan hingga memadat.

- *Fresh culture* bakteri yang akan diuji disiapkan.

2) Penanaman sampel

- Koloni dari TSIA diinokulasikan ke SCA dengan cara ditusuk ke dasar dan digores media miring SCA menggunakan ose serta diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 96 jam.

3) Pengamatan pengujian

- Hasil intepretasi *Salmonella* terhadap hasil uji *citrate* umumnya ditunjukkan hasil positif yaitu adanya pertumbuhan koloni yang diikuti perubahan warna dari hijau menjadi biru.

6. Pengujian phenol red lactose broth

1) Persiapan media dan sampel

- Media pertumbuhan yang tersusun atas *beef* ekstrak 0,15 g, *peptone* 0,25 g, dan *lactose* 0,25 g dilarutkan dalam 50 ml akuades dengan cara dipanaskan dan diaduk sampai homogen.

- Media yang telah larut ditambahkan *phenol red* indikator PP sebanyak 0,05 ml dan *ajust* pH hingga menunjukkan pH 7,0 kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi \pm 7 ml serta dimasukkan tabung Durham tanpa ada gelembung udara. Selanjutnya media disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 Atm.

- *Fresh culture* bakteri yang akan diuji disiapkan.

2) Penanaman sampel

- Koloni dari TSIA miring diinokulasikan ke dalam *phenol red lactose broth* kemudian diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 48 jam.

3) Pengamatan pengujian

- Hasil intepretasi *Salmonella* ditandai hasil reaksi negatif yaitu dengan tidak ada perubahan warna dan pembentukan gas.

7. Pengujian *phenol red sucrose broth*

1) Persiapan media dan sampel

- Media pertumbuhan yang tersusun atas *beef* ekstrak 0,15 g, *peptone* 0,25 g, dan *sucrose* 0,25 g dilarutkan dalam 50 ml akuades dengan cara dipanaskan dan diaduk sampai homogen.
- Media yang telah larut, ditambahkan *phenol red* indikator PP sebanyak 0,05 ml dan *ajust* pH hingga menunjukkan pH 7,0 kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi \pm 7 ml serta dimasukkan tabung Durham tanpa ada gelembung udara

selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 Atm.

- *Fresh culture* bakteri yang akan diuji disiapkan.

2) Penanaman sampel

- Koloni dari TSIA miring diinokulasikan ke dalam *phenol red sucrose broth* kemudian diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 48 jam.

3) Pengamatan pengujian

- Hasil intepretasi *Salmonella* ditandai hasil reaksi negatif yaitu dengan tidak ada perubahan warna dan pembentukan gas.

8. **Pengujian *phenol red maltose broth***

1) Persiapan media dan sampel

- Media pertumbuhan yang tersusun atas *beef* ekstrak 0,15 g, *peptone* 0,25 g, dan *maltose* 0,25 g dilarutkan dalam 50 ml akuades dengan cara dipanaskan dan diaduk sampai homogen.
- Media yang telah larut, ditambahkan *phenol red* indikator PP sebanyak 0,05 ml dan *ajust* pH hingga menunjukkan pH 7,0 kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi ± 7 ml serta dimasukkan tabung Durham tanpa ada gelembung udara selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 Atm.

- *Fresh culture* bakteri yang akan diuji disiapkan.

2) Penanaman sampel

- Koloni dari TSIA miring diinokulasikan ke dalam *phenol red maltose broth* kemudian diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 48 jam.

3) Pengamatan pengujian

- Hasil intepretasi *Salmonella* ditandai hasil reaksi positif yaitu dengan ada perubahan warna dan pembentukan gas.

9. **Pengujian *phenol red manitol broth***

1) Persiapan media dan sampel

- Media pertumbuhan yang tersusun atas *beef* ekstrak 0,15 g, *peptone* 0,25 g, dan *manitol* 0,25 g dilarutkan dalam 50 ml akuades dengan cara dipanaskan dan diaduk sampai homogen.
- Media yang telah larut, ditambahkan *phenol red* indikator PP sebanyak 0,05 ml dan *ajust* pH hingga menunjukkan pH 7,0 kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi ± 7 ml serta dimasukkan tabung Durham tanpa ada gelembung udara selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 Atm.
- *Fresh culture* bakteri yang akan diuji disiapkan.

2) Penanaman sampel

- Koloni dari TSIA miring diinokulasikan ke dalam *phenol red manitol broth* kemudian diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 48 jam.

3) Pengamatan pengujian

- Hasil intepretasi *Salmonella* ditandai hasil reaksi positif yaitu dengan ada perubahan warna dan pembentukan gas.

10. Pengujian katalase

1) Persiapan dan pengujian sampel

- Objek glass dibersihkan menggunakan alkohol.
- Larutan H₂O₂ 3% sebanyak 1 tetes ditetaskan di atas objek glass.
- Satu ose kultur bakteri dilarutkan dengan larutan H₂O₂ 3% yang ada di atas objek glass.

2) Pengamatan pengujian

- Preparat positif *Salmonella* ditunjukkan terbentuknya gelembung gas pada preparat. Jika terjadi reduksi H₂O₂ akan terlihat adanya gelembung O₂ di sekeliling pertumbuhan bakteri. Hal ini berarti uji katalase tersebut positif.

11. Pengujian oksidase

1) Persiapan dan pengujian sampel

- Objek glass dibersihkan menggunakan alkohol dan dipersiapkan oksidase kit.
- Satu ose kultur bakteri digoreskan pada oksidase kit yang ada di atas objek glass.

2) Pengamatan pengujian

- Preparat positif *Salmonella* ditunjukkan adanya oksidase negatif yaitu tidak ada perubahan warna pada oksidase kit.

12. Pengujian polyvalent somatic O

1) Persiapan dan pengujian sampel

- Objek glass dibersihkan menggunakan alkohol.
- Satu ose koloni dari TSIA diletakkan pada gelas preparat dan ditambahkan satu tetes larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) steril dan diratakan dengan kultur kemudian diberi satu tetes *Salmonella polyvalent somatic* (O) antiserum di samping suspensi koloni.
- Suspensi koloni dilarutkan ke antiserum sampai tercampur sempurna dan dimiringkan ke kiri dan ke kanan dengan latar belakang gelap.

2) Pengamatan pengujian

- Preparat positif *Salmonella* ditunjukkan adanya reaksi aglutinasi.

B. Analisa Profil Protein Isolat *Salmonella* spp. menggunakan SDS-PAGE

1) Preparasi Sampel Protein

- Isolat *Salmonella* spp. yang berasal dari kulit, daging dan visera ayam telah ditumbuhkan dalam *nutrient broth*.
- Isolat *Salmonella* sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung *Polypropilen* dan disuspensikan ke dalam 5 ml *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7,4 serta disonifikasi selama 10 menit kemudian disentrifugasi 6.000 rpm selama 15 menit.
- Pelet yang terbentuk ditambahkan ethanol (EtOH) 96% dengan perbandingan 1:1 dan disimpan dalam *freezer* dalam suhu -20°C selama 24 jam.

- Setelah itu, isolat disentrifugasi 10.000 rpm selama 5 menit, kemudian supernatan dibuang dan pelet dikeringkan di udara bebas.
- Pelet ditambahkan buffer Tris-HCl dingin 20 mM dengan perbandingan 1:1. Isolat protein *Salmonella spp.* disimpan dalam suhu -80%.

2) Pembuatan Gel

- Pembuatan campuran larutan *separating gel* 12% (8 ml, untuk 1 *plate*) yaitu sebanyak 30% akrilamid 2,40 ml, 4X Tris-Cl/SDS 1,5 M pH 8,8 2,00 ml, dan aquadest 3,49 ml, dicampur dalam erlenmeyer sampai homogen. Kemudian 10% (*ammonium persulfat*) APS 0,10 ml, dan TEMED 0,01 ml ditambahkan pada campuran tersebut.
- Pembuatan campuran larutan *stacking gel* 4% (8 ml, untuk 1 *plate*) yaitu 40% akrilamid 0,300 ml, 4X Tris-Cl/SDS 0,5 M pH 6,8 0,750 ml, aquadest 1,895 ml, dicampur dalam erlenmeyer sampai homogen. Kemudian (*ammonium persulfat*) APS 0,050 ml, dan TEMED 0,005 ml ditambahkan pada campuran tersebut.

3) Persiapan Gel

- Plat gel dibuat dengan cara merangkai dua plat kaca dengan jarak antara plat 1 mm. Gel dibuat dua lapis yaitu sel sebagai tempat pengumpulan sampel (*stacking gel*) dan gel sebagai media untuk pemisahan protein (*separating gel*).
- Larutan *separating gel* 12% dimasukkan hati-hati ke dalam *plate* elektroforesis menggunakan mikropipet melalui kaca pemisah

untuk mengurangi kemungkinan timbulnya gelembung udara, dilakukan dengan cepat dan hati-hati, 0,5-1 cm bagian tidak terisi kemudian dibiarkan hingga memadat.

- Larutan *stacking gel* 4% dituang di atas *separating gel* yang telah memadat sambil dipasang sisir dengan hati-hati, dipastikan tidak terbentuk gelembung udara yang terperangkap pada ujung sisir, dibiarkan hingga memadat hingga terbentuk sumuran sampel.
- Setelah terbentuk gel, sisir diangkat dengan hati-hati, selanjutnya gel dalam *plate* dipasang pada alat elektroforesis dan *running buffer* dituangkan ke bejana elektroforensis.

4) Injeksi Sampel dan *Running*

- Sebanyak 15 μL sampel isolat protein dimasukkan 15 μL RSB (*Reducing Sample Buffer*) dimasukkan ke dalam *mikrotube* (perbandingan 1:1), kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100° C selama 5 menit. Setelah itu, sampel didinginkan pada suhu ruang dan dimasukkan ke dalam setiap sumur gel masing-masing 15 μL .
- Anoda dihubungkan reservoir bawah dan katoda dihubungkan pada reservoir atas. *Power supply* dihidupkan dengan arus listrik sebesar 28 mA dan 200 V dan dilakukan *running* hingga warna biru berada diketinggian 0,5 cm dari batas bawah plat gel.
- Gel hasil *running* direndam dalam larutan *staining* sambil dikocok menggunakan *shaker* otomatis selama 45 menit. Penghilangan warna dilakukan dengan merendam gel dalam larutan *destaining*.

menggunakan penggoyang otomatis sampai gel menjadi jernih dan pita gel tampak jelas.

5) Penentuan Berat Molekul

- Penentuan berat molekul protein sampel didapatkan dari persamaan regresi antara mobilitas relatif protein marker (penanda protein) dengan log dari berat molekul marker yang telah diketahui. Mobilitas relatif protein dihitung dengan membandingkan jarak migrasi protein. Rumus perhitungan berat molekul di bawah ini:

$$Rf = \frac{a}{b} = \frac{\text{jarak migrasi protein}}{\text{jarak migrasi tracking dye}}$$

- Protein dengan berat molekul tertentu mempunyai nilai Rf tertentu pula. Untuk membuat kurva kalibrasi berat molekul, nilai Rf ditempatkan sebagai sumbu X dan berat molekul (sebagai fungsi dari log berat molekul) ditempatkan sebagai sumbu Y. Grafik yang didapatkan berupa grafik linier dengan persamaan garis $y = a + bx$. Berat molekul dapat dicari dengan cara mengplotkan langsung kurva standar berat molekul atau dapat dihitung dengan menggunakan persamaan garis dari kurva standar berat molekul.

Lampiran 3

Jumlah Koloni *Salmonella spp.* asal Penjual Ayam di Kota Malang

Kode Sampel	Ulangan (cfu/ml)			Jumlah Bakteri (cfu/ml)*	Rerata (Xi)	Xi-X	(Xi-X) ²	Sd
	1	2	3					
M ₁	2,8 x10 ⁸	2,8 x10 ⁸	2,3 x10 ⁸	7,9 x10 ⁸	26,33	4,94	24,44	3,49
V ₁	2,2 x10 ⁸	2,8 x10 ⁸	5,5 x10 ⁸	10,5 x10 ⁸	35	13,61	185,26	9,62
K ₁	7,6 x10 ⁸	-	2,3 x10 ⁸	9,9 x10 ⁸	33	11,61	134,81	8,21
M ₂	2 x10 ⁸	1,4 x10 ⁸	-	3,4 x10 ⁸	11,33	-10,05	101,11	9,95
V ₂	5 x10 ⁸	3 x10 ⁸	-	8,0 x10 ⁸	2,66	-18,72	350,50	13,23
K ₂	4,6 x10 ⁸	1,4 x10 ⁸	-	6,0 x10 ⁸	20	-1,38	1,92	0,98
Jumlah Rata-rata (X)				38,5 x10 ⁸	128,33			21,38

*Rerata jumlah bakteri dihitung dari duplikat sampel yang ditanam pada duplikat cawan dengan 3 ulangan.

Keterangan : M: daging ayam ; V: visera ayam; K: kulit ayam; (1): Mertojoyo; (2): Sawojajar; Sd: Standar Deviasi; (-) : tidak terdeteksi keberadaan *Salmonella spp.*

Lampiran 4

Dokumentasi Lokasi



Gambar 1. Penanganan Visera Ayam di Mertojojo



Gambar 2. Penanganan Karkas Ayam di Mertojojo



Gambar 3. Pencucian Karkas Ayam di Mertojojo



Gambar 4. Penanganan Visera Ayam di Sawojajar



Gambar 5. Penanganan Karkas Ayam di Sawojajar



Gambar 6. Pembungkusan Karkas Ayam di Sawojajar

Lampiran 5.
Profil Koloni *Salmonella spp.*

1. Profil Morfologi Koloni *Salmonella spp.* pada Kulit, Daging dan Visera Ayam Asal Mertojoyo dan Sawojajar Ulangan 1

No	Kode Isolat	Morfologi Koloni			
		Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
1	K ₁ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
2	K ₁ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
3	K ₁ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
4	K ₁ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
5	K ₁ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
6	K ₁ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
7	M ₁ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
8	M ₁ A ₂	<i>irregular</i>	cembung	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
9	M ₁ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
10	M ₁ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
11	M ₁ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
12	M ₁ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
13	V ₁ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
14	V ₁ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
15	V ₁ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
16	V ₁ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
17	V ₁ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
18	V ₁ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
19	K ₂ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
20	K ₂ A ₂	<i>irregular</i>	cembung	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
21	K ₂ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
22	K ₂ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
23	K ₂ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
24	K ₂ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
25	M ₂ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
26	M ₂ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
27	M ₂ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
28	M ₂ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
29	M ₂ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
30	M ₂ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
31	V ₂ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
32	V ₂ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
33	V ₂ A ₃	<i>irregular</i>	cembung	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
34	V ₂ B ₁	<i>irregular</i>	cembung	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
35	V ₂ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
36	V ₂ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah

2. Profil Morfologi Koloni *Salmonella spp.* pada Kulit, Daging dan Visera Ayam Asal Mertojoyo dan Sawojajar Ulangan 2

No	Kode Isolat	Morfologi Koloni			
		Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
1	K ₁ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
2	K ₁ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
3	K ₁ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
4	K ₁ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
5	K ₁ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
6	K ₁ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
7	M ₁ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
8	M ₁ A ₂	<i>irregular</i>	cembung	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
9	M ₁ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
10	M ₁ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
11	M ₁ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
12	M ₁ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
13	V ₁ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
14	V ₁ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
15	V ₁ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
16	V ₁ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
17	V ₁ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
18	V ₁ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
19	M ₂ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
20	M ₂ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
21	M ₂ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
22	M ₂ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
23	M ₂ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
24	M ₂ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
25	V ₂ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
26	V ₂ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
27	V ₂ A ₃	<i>irregular</i>	cembung	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
28	V ₂ B ₁	<i>irregular</i>	cembung	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
29	V ₂ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
30	V ₂ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah

3. Profil Morfologi Koloni *Salmonella spp.* pada Kulit, Daging dan Visera Ayam Asal Mertojoyo dan Sawojajar Ulangan 3

No	Kode		Morfologi Koloni		
	Isolat	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
1	V ₁ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
2	V ₁ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
3	V ₁ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
4	V ₁ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
5	V ₁ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
6	V ₁ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
7	K ₂ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
8	K ₂ A ₂	<i>irregular</i>	cembung	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
9	K ₂ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
10	K ₂ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
11	K ₂ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
12	K ₂ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
13	M ₂ A ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
14	M ₂ A ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
15	M ₂ A ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>convex</i>	Hitam di zona merah
16	M ₂ B ₁	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
17	M ₂ B ₂	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah
18	M ₂ B ₃	<i>irregular</i>	rata	<i>flat</i>	Hitam di zona merah

Keterangan:

- K₁ : Kulit Ayam di Mertojoyo
 K₂ : Kulit Ayam di Sawojajar
 M₁ : Daging Ayam di Mertojoyo
 M₂ : Daging Ayam di Sawojajar
 V₁ : Visera Ayam di Mertojoyo
 V₂ : Visera Ayam di Sawojajar
 A, B : jenis koloni *Salmonella spp.*

Lampiran 6

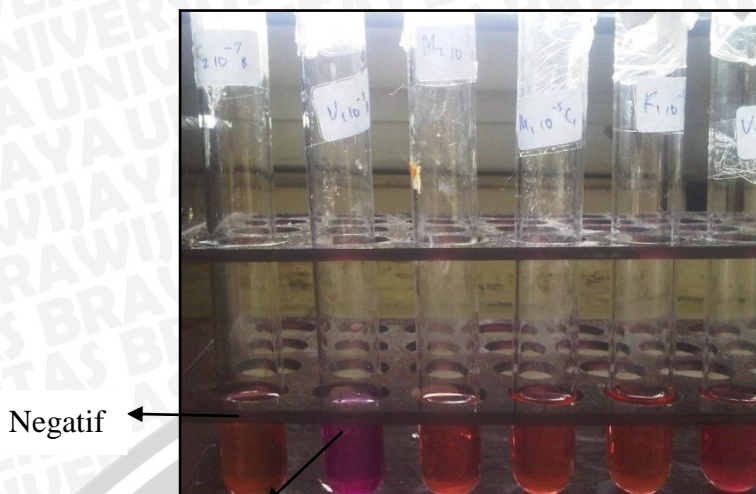
Dokumentasi Penelitian Karakterisasi Isolat *Salmonella spp.* pada Karkas dan Visera Asal Penjual Ayam di Kota Malang



Gambar 1. Isolasi *Salmonella spp.* menggunakan XLD



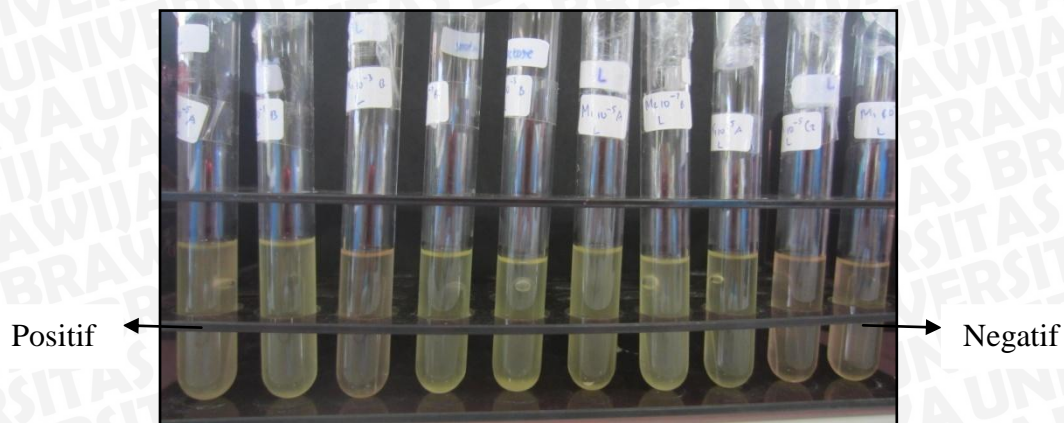
Gambar 2. Uji TSIA



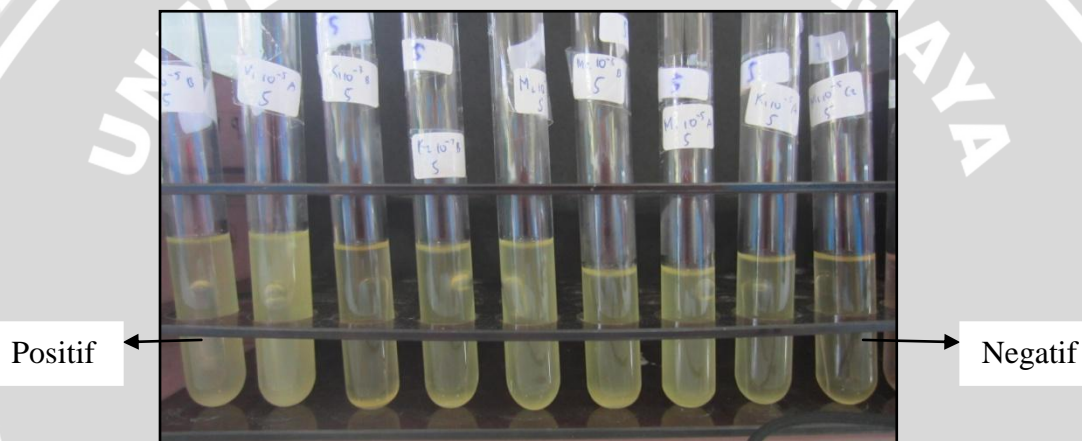
Positif **Gambar 3. Uji Urease**



Gambar 4. Uji Citrate

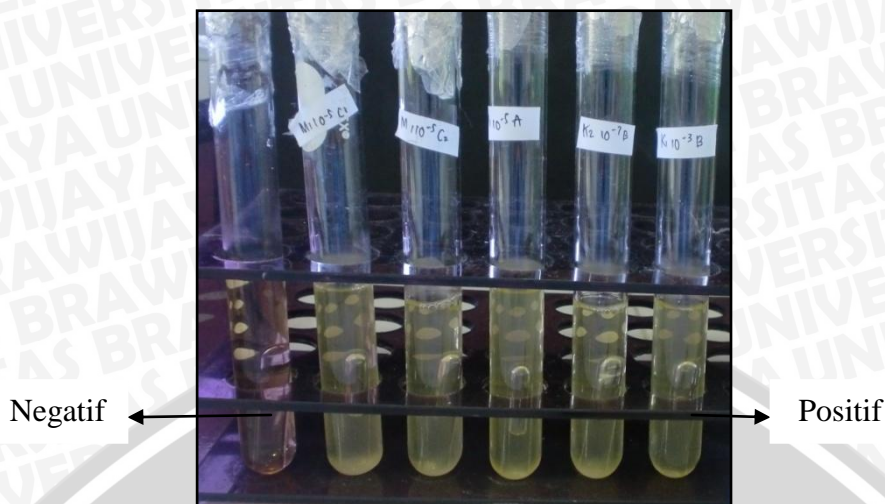


Gambar 5. Uji Phenol Red Lactose Broth

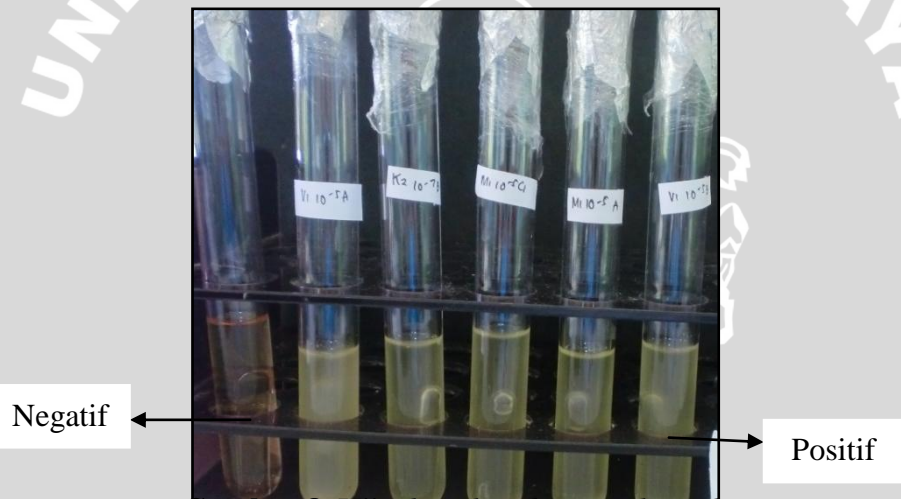


Gambar 6. Uji Phenol Red Sucrose Broth





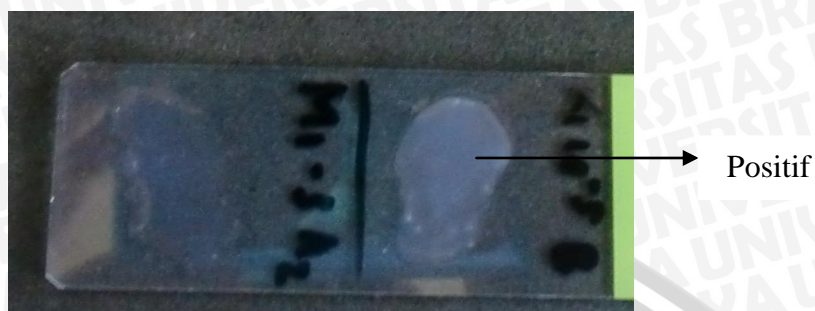
Gambar 7. Uji Phenol Red Maltose Broth



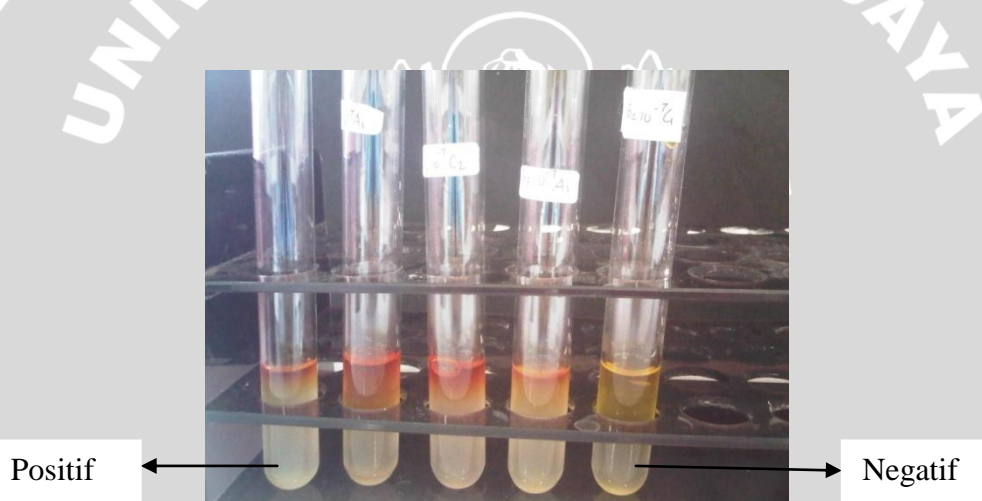
Gambar 8. Uji Phenol Red Mannitol Broth



Gambar 9. Uji Katalase



Gambar 10. Uji *Polyvalent Somatic O*



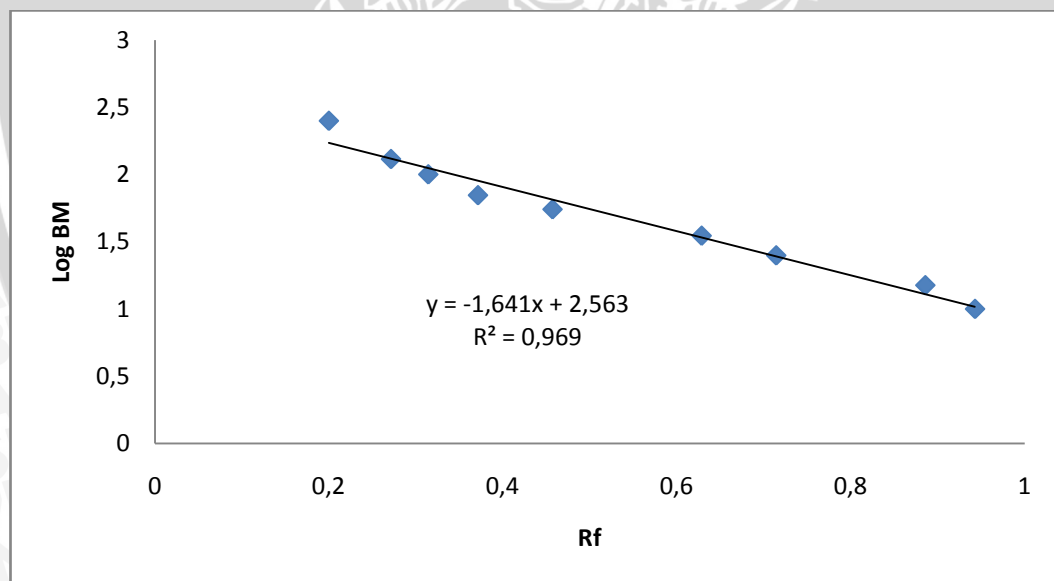
Gambar 11. Uji *Methyl Red*

Lampiran 7.

Perhitungan Berat Molekul Protein Marker

Perhitungan berat molekul protein marker (*Pageruler plus prestained protein ladder*):

No	BM Marker (kDa)	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb x)	Log BM (sb y)
1	250	1,4	7	0,2	2,39
2	130	1,9	7	0,27	2,11
3	100	2,2	7	0,31	2
4	70	2,6	7	0,37	1,84
5	55	3,2	7	0,45	1,74
6	35	4,4	7	0,62	1,54
7	25	5	7	0,71	1,39
8	15	6,2	7	0,88	1,17
9	10	6,6	7	0,94	1



Gambar 1. Kurva Standar Berat Molekul Protein Marker

Lampiran 8

Berat Molekul Protein Isolat yang Terdeteksi

1. Berat Molekul Protein Isolat M₁A₁

No.	Isolat	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb X)	Log BM (sb Y)	BM (kDa)
1	M ₁ A _{1.1}	2,15	7	0,3	2,05	114,54
2	M ₁ A _{1.2}	3	7	0,42	1,85	72,39
3	M ₁ A _{1.3}	4,05	7	0,57	1,61	41,07
4	M ₁ A _{1.4}	4,2	7	0,6	1,57	37,87
5	M ₁ A _{1.5}	4,95	7	0,70	1,40	25,26

2. Berat Molekul Protein Isolat M₁C₂

No.	Isolat	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb X)	Log BM (sb Y)	BM (kDa)
1	M ₁ C _{2.1}	2,15	7	0,3	2,05	114,54
2	M ₁ C _{2.2}	3	7	0,42	1,85	72,39
3	M ₁ C _{2.3}	4,05	7	0,57	1,61	41,07
4	M ₁ C _{2.4}	4,2	7	0,6	1,57	37,87
5	M ₁ C _{2.5}	4,95	7	0,70	1,40	25,26

3. Berat Molekul Protein Isolat V₁C₁

No.	Isolat	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb X)	Log BM (sb Y)	BM (kDa)
1	V ₁ C _{1.1}	2,15	7	0,3	2,05	114,54
2	V ₁ C _{1.2}	3	7	0,42	1,85	72,39
3	V ₁ C _{1.3}	4,05	7	0,57	1,61	41,07
4	V ₁ C _{1.4}	4,2	7	0,6	1,57	37,87
5	V ₁ C _{1.5}	4,95	7	0,70	1,40	25,26

4. Berat Molekul Protein Isolat K₁B₁

No.	Isolat	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb X)	Log BM (sb Y)	BM (kDa)
1	K ₁ B _{1.1}	2,15	7	0,3	2,05	114,54
2	K ₁ B _{1.2}	2,35	7	0,33	2,01	108,52
3	K ₁ B _{1.3}	3	7	0,42	1,85	72,39
4	K ₁ B _{1.4}	4,05	7	0,57	1,61	41,07
5	K ₁ B _{1.5}	4,2	7	0,6	1,57	37,87
6	K ₁ B _{1.6}	4,95	7	0,70	1,40	25,26

5. Berat Molekul Protein Isolat K₁B₃

No.	Isolat	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb X)	Log BM (sb Y)	BM (kDa)
1	K ₁ B _{3.1}	2,15	7	0,3	2,05	114,54
2	K ₁ B _{3.2}	2,35	7	0,33	2,01	108,52
3	K ₁ B _{3.3}	3	7	0,42	1,85	72,39
4	K ₁ B _{3.4}	4,05	7	0,57	1,61	41,07
5	K ₁ B _{3.5}	4,2	7	0,6	1,57	37,87
6	K ₁ B _{3.6}	4,95	7	0,70	1,40	25,26

6. Berat Molekul Protein Isolat V₁A₂

No.	Isolat	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb X)	Log BM (sb Y)	BM (kDa)
1	V ₁ A _{2.1}	2,15	7	0,3	2,05	114,54
2	V ₁ A _{2.2}	2,35	7	0,33	2,01	108,52
3	V ₁ A _{2.3}	3	7	0,42	1,85	72,39
4	V ₁ A _{2.4}	4,05	7	0,57	1,61	41,07
5	V ₁ A _{2.5}	4,2	7	0,6	1,57	37,87
6	V ₁ A _{2.6}	4,95	7	0,70	1,40	25,26

7. Berat Molekul Protein Isolat K₂C₁

No.	Isolat	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb X)	Log BM (sb Y)	BM (kDa)
1	K ₂ C _{1.1}	2,35	7	0,33	2,01	108,52
2	K ₂ C _{1.2}	3	7	0,42	1,85	72,39
3	K ₂ C _{1.3}	4,05	7	0,57	1,61	41,07
4	K ₂ C _{1.4}	4,2	7	0,6	1,57	37,87
5	K ₂ C _{1.5}	4,95	7	0,70	1,40	25,26
6	K ₂ C _{1.6}	5,15	7	0,73	1,35	22,68

8. Berat Molekul Protein Isolat V₂B₃

No.	Isolat	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb X)	Log BM (sb Y)	BM (kDa)
1	V ₂ B _{3.1}	2,35	7	0,33	2,01	108,52
2	V ₂ B _{3.2}	3	7	0,42	1,85	72,39
3	V ₂ B _{3.3}	4,05	7	0,57	1,61	41,07
4	V ₂ B _{3.4}	4,2	7	0,6	1,57	37,87
5	V ₂ B _{3.5}	4,95	7	0,70	1,40	25,26
6	V ₂ B _{3.6}	5,15	7	0,73	1,35	22,68

9. Berat Molekul Protein Isolat M₂B₂

No.	Isolat	Jarak Awal (cm)	Jarak Akhir (cm)	Rf (sb X)	Log BM (sb Y)	BM (kDa)
1	M ₂ B _{2.1}	2,35	7	0,33	2,01	108,52
2	M ₂ B _{2.2}	3	7	0,42	1,85	72,39
3	M ₂ B _{2.3}	4,05	7	0,57	1,61	41,07
4	M ₂ B _{2.4}	4,2	7	0,6	1,57	37,87
5	M ₂ B _{2.5}	4,95	7	0,70	1,40	25,26
6	M ₂ B _{2.6}	5,15	7	0,73	1,35	22,68