

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikrobiologi Pangan

Mikrobiologi pangan adalah salah satu cabang mikrobiologi yang mempelajari bentuk, sifat, dan peranan mikroorganisme dalam rantai produksi pangan baik yang menguntungkan maupun yang merugikan seperti kerusakan pangan dan penyebab penyakit bawaan pangan (Sopandi dan Wardah, 2014). Bidang mikrobiologi pangan tidak hanya menyangkut aspek mikrobiologi kerusakan, penyakit bawaan, dan kontrol efektif pengolahan pangan, tetapi juga menyangkut informasi dasar ekologi, fisiologi, metabolisme, dan genetika mikroba. Kandungan mikroorganisme suatu spesimen pangan dapat memberikan keterangan yang mencerminkan mutu bahan mentahnya, keadaan sanitasi pada pengolahan pangan tersebut, serta keefektifan metode pengawetannya (Pelczar dan Chan, 2008).

Kelompok mikroorganisme dalam pangan terdiri atas beberapa spesies dan strain bakteri, khamir, kapang, dan virus yang berperan penting dalam pangan karena kemampuannya. Kemampuan tersebut menyebabkan kerusakan dan penyakit bawaan pangan, serta digunakan untuk produksi pangan dan aditif pangan. Menurut Sopandi dan Wardah (2014) di antara 4 kelompok mikroorganisme pangan, bakteri merupakan kelompok terbesar. Hal itu disebabkan karena bakteri dapat berada di hampir semua jenis pangan dengan laju pertumbuhan yang tinggi, bahkan pada pangan yang tidak dapat ditumbuhi oleh khamir dan kapang. Bakteri juga merupakan kelompok mikroorganisme paling penting yang menyebabkan kerusakan pangan dan menimbulkan penyakit bawaan pangan (Sopandi dan Wardah, 2014)

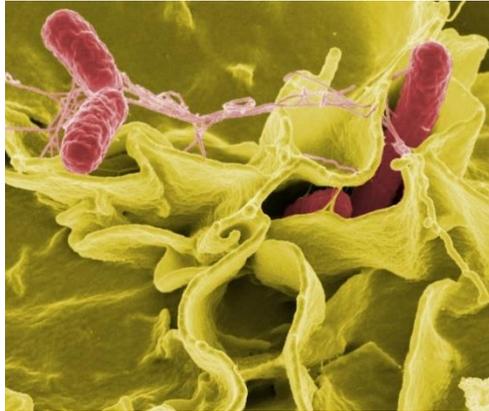
Volk dan Wheller (1993) menyatakan bahwa *foodborne disease* yang disebabkan oleh bakteri dapat dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu infeksi

makanan dan keracunan makanan. Infeksi makanan terjadi karena konsumsi makanan mengandung bakteri hidup yang mampu bersporulasi di dalam usus dan menimbulkan penyakit, sedangkan keracunan makanan tidak disebabkan tertelannya bakteri hidup, melainkan akibat masuknya toksin atau substansi beracun yang disekresi ke dalam makanan. Berdasarkan toksin yang dihasilkan dan sesuai dengan sifat kimianya maka toksin dibagi menjadi 2 golongan yaitu endotoksin dan eksotoksin. Eksotoksin terdiri dari protein yang dibuat oleh bakteri yang mempunyai efek terhadap saluran pencernaan dan dapat menyebabkan diare disebut enterotoksin yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, *Salmonella, sp* dan *Escherichia coli* (Supardi dan Sukanto.1999) Sedangkan menurut Pelczar dan Chan (2008), bakteri tersebut dapat menyebabkan keracunan makanan yang dapat berakhir dengan kematian.

2.2 Bakteri *Salmonella sp*

Keberadaan mikroba pada makanan ada yang tidak berbahaya bagi manusia, beberapa mikroba mengakibatkan kerusakan pangan, menimbulkan penyakit dan menghasilkan racun (Waluyo, 2007). Dalam upaya pencegahan kerusakan pangan, pertumbuhan mikroorganisme harus dicegah. Ini dapat dicapai dengan menghilangkan satu atau lebih kondisi yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Salah satu metode pengawetan pangan yaitu dengan menggunakan pengawet, bahan ini tidak membunuh semua mikroorganisme, tetapi menghambat pertumbuhannya dan menunda kerusakan pangan (Gaman, 1992).

Bakteri patogen dapat memproduksi toksin yang menyebabkan suatu penyakit pada manusia. Supardi dan Sukanto (1999) menambahkan bahwa berdasarkan toksin yang dihasilkan dan sesuai dengan sifat kimianya maka toksin yang diproduksi bakteri patogen dibagi menjadi dua golongan, yaitu: (1) Endotoksin, yaitu toksin yang disintesis di dalam sel mikroorganisme, kemudian dikeluarkan ke substrat di sekelilingnya.



Gambar 2.1 Bakteri Salmonella (<https://id.wikipedia.org/wiki/Salmonella>)

- **Morfologi**

Salmonella merupakan salah satu genus dari *Enterobacteriaceae*, berbentuk batang gram negatif dengan panjang $1\mu\text{m}-3,5\mu\text{m} \times 0,5\mu\text{m}-0,8\mu\text{m}$, tidak membentuk spora, anaerobik fakultatif, motil, dan aerogenik (Supardi dan Sukanto 1999). Salmonella merupakan bakteri mesofilik, dapat tumbuh pada kisaran suhu $5-460^{\circ}\text{C}$ dengan suhu pertumbuhan optimum $35-370^{\circ}\text{C}$. Bakteri ini mati pada suhu pasteurisasi, sensitif terhadap pH rendah ($<4,5$)

Bakteri Salmonella habitatnya pada air kotor, makanan yang tercemar oleh feses hewan kelompok unggas. Cara penularannya melalui makanan, jari tangan atau kuku yang kotor, masa inkubasi rata-rata 7–14 hari setelah terinfeksi. Setelah berkembang biak kemudian menembus dinding usus menuju saluran limpa, masuk kedalam pembuluh darah dalam waktu 24-72 jam, Salmonella mempunyai karakteristik memfermentasi glukosa dan maltosa tanpa memproduksi gas dan tidak memfermentasikan laktosa dan sukrosa (Jawetz, dkk, 2005).

- **Klasifikasi**

Kingdom : Bacteriae

Phylum : proteobacteria

Class : Gamma Prateobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Salmonella

Spesies : Salmonella,sp

(Isyana F, 2012)

- **Sifat Kimia**

Salmonella merupakan bakteri yang tidak mampu memfermentasikan laktosa, sukrosa atau salicin, katalase positif, oksidase negatif dan manitol untuk memproduksi asam atau gas. Salmonella tidak dapat dibedakan dengan *E. coli* jika dilihat dengan mikroskop ataupun dengan menumbuhkannya pada media yang mengandung nutrisi umum. Salmonella dapat tumbuh optimum pada media pertumbuhan yang sesuai dan memproduksi koloni yang tampak oleh mata dalam jangka waktu 24 jam pada suhu 37°C. Salmonella sensitif terhadap panas dan tidak tahan pada suhu lebih dari 70°C dan pasteurisasi pada suhu 71,1°C selama 15 menit (Cox et al, 2000). Salmonella menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon disaat genus lainnya membutuhkan sumber karbon kompleks sebagai sumber nutrisinya. Beberapa Salmonella kecuali *S. typhi* memproduksi gas selama proses fermentasi. Salmonella mampu mengubah Nitrat menjadi Nitrit dan tidak membutuhkan NaCl untuk pertumbuhannya (Hanes, 2003). Karakteristik biokimia dari Salmonella dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Karakteristik Biokimia Salmonella (Bell,2003)

Karakteristik	Reaksi
Katalase	+
Oksidase	-
Produksi gas dari glukosa^a	+
Metil merah	+
Voges-Proskauer	-
Produksi H₂S dari TSIA^a	+
KIA	+ / gas
Indole	-
Produksi Urease	-
Sitrat sebagai sumber karbon^b	+

+ = reaksi positif - = reaksi negative

^a = pengecualian bagi *Salmonella paratyphi A*

^b = pengecualian bagi *Salmonella typhi*

- **Patogenesis**

Habitat bakteri Salmonella berada di dalam saluran pencernaan manusia, dan hewan. Oleh karena itu penularan bakteri ini yaitu melalui mulut dari makanan/minuman yang tercemar. Salmonella akan berkembang biak di dalam alat pencernaan penderita (Dharmojono, 2001). Salmonella di dalam tubuh host akan menginvasi mukosa usus halus, berkembang di sel epitel dan menghasilkan toxin yang akan menyebabkan reaksi radang dan akumulasi cairan di dalam usus. Kemampuan Salmonella untuk menginvasi dan merusak sel berkaitan dengan diproduksinya *Thermostable Cytotoxic Factor*. Salmonella yang ada di dalam sel epitel akan memperbanyak diri dan menghasilkan thermolabile enterotoxin yang secara langsung mempengaruhi sekresi air dan elektrolit (Ray, 2001).

Cemaran bakteri enterik pathogen yang membahayakan manusia dan secara nasional maupun internasional tidak boleh ada keberadaannya pada makanan siap saji maupun makanan yang belum diolah adalah bakteri *Salmonella, sp* (Anonimus, 1995). Berikut penyakit utama yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella, sp* yaitu:

1. Demam tifoid (demam enterik)

Penyakit infeksi akut yang disebabkan oleh infeksi *Salmonella typhi*, dapat menyebabkan typhoid fever yang melibatkan 4 proses yaitu mulai dari penempelan bakteri ke lumen usus, bakteri bermultiplikasi di makrofag *peyer's patch*, bertahan hidup di aliran darah, dan menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan keluarnya elektrolit dan air ke lumen usus. Pada saat *Salmonella typhi* masuk melalui makanan dan minuman melewati lambung terlebih dahulu dengan suasana asam sehingga banyak bakteri yang mati tetapi jika bakteri masih hidup akan mencapai usus halus dan melekat pada sel mukosa kemudian menginvasi dan menembus dinding usus. Bakteri yang mencapai folikel limfe usus halus dapat menimbulkan tukak pada mukosa usus, tukak dapat menyebabkan perdarahan dan perforasi usus kemudian mengikut aliran ke kelenjar limfe mesenterika dan ada yang melewati sirkulasi sistemik ke jaringan *Reticulo Endothelial System (RES)* di organ hati dan limpa. Gejala yang timbul adalah demam tinggi pada sore hingga malam hari, malaise, sakit kepala, konstipasi, bradikardia, dan mialgia setelah masa inkubasi 10-14 hari tetapi setelah itu demam meningkat dan terkadang muncul bintik-bintik merah pada kulit. Apabila sudah memasuki minggu ketiga atau terjadi perburukan biasanya muncul tanda-tanda seperti stupor, leukopenia, bradikardia, splenomegali, diare, dan perdarahan intestinal akibat terjadinya ulserasi

2. Bakteremia dengan lesi fokal

Penyebab terjadinya penyakit ini adalah akibat infeksi bakteri *Salmonella choleraesuis*, bakteri akan menginvasi ke aliran darah sehingga memungkinkan adanya lesi fokal di paru, tulang, dan meningen tetapi tidak terdapat manifestasi dalam usus.

3. Gastroenteritis

Penyebab terjadinya gastroenteritis disebabkan oleh infeksi *Salmonella thypimurium*, bakteri akan melekat pada enterosit di ileum dan kolon kemudian menginvasi mukosa kolon dan ileum dan bakteri akan mengeluarkan enterotoksin yang menyebabkan terjadinya inflamasi lokal dengan gejala seperti diare, mual, muntah, dan demam. Gejala akan berlangsung selama 2-5 hari.

2.3 Bumbu

Bumbu masak merupakan campuran yang terdiri dari beberapa rempah yang ditambahkan pada bahan makanan sebelum disajikan. Bumbu dapat berupa komponen tunggal seperti rempah – rempah secara individual ataupun campuran dari beberapa bumbu dasar, misalnya bawang putih, bawang merah, garam dan lainnya. Bahan penyedap ada yang berasal dari bahan alami seperti bumbu, herbal dan minyak esensial, ekstrak tanaman atau hewan, dan oleorisin. Namun, pada saat ini sudah dapat dibuat bahan penyedap sintesis yang merupakan komponen atau zat yang dibuat menyerupai flavour penyedap alami contoh, aroma bawang putih dapat dihasilkan oleh dialil trisulfida (Cahyadi, 2008).

Bumbu merupakan bahan yang dicampurkan ke masakan sehingga masakan tersebut mempunyai cita rasa yang menimbulkan selera agar memberikan ciri khas tersendiri pada masakan. Menurut Hartati (2001), bumbu digunakan dalam makanan untuk meningkatkan selera nafsu makan dan cita rasa.

Bumbu merupakan bagian yang penting dalam pengolahan makanan, dengan penambahan atau penggunaan bumbu dan rempah maka hasil olahan akan mendapat rasa, aroma, serta warna yang menarik. Adapun fungsi bumbu:

- 1) Memberi rasa dan aroma pada makanan.
- 2) Meningkatkan rasa serta aroma pada makanan yang sedang dimasak.
- 3) Merangsang nafsu makan.
- 4) Membantu pencernaan makanan, bumbu yang ditambahkan pada makanan dapat merangsang usus untuk mencerna makanan lebih banyak.
- 5) Sebagai bahan pengawet makanan (asam, jeruk, gula, kunir).

Menurut Lee, dalam Hartati (2001), secara fisik bumbu instan dihasilkan oleh industri dibagi dua yaitu bumbu yang berbentuk bubuk dan bumbu yang berbentuk cair. Menurut PerKa BPOM No. 16 tahun 2016 bumbu dibedakan menjadi dua yaitu bumbu siap pakai bubuk (kering) dan bumbu siap pakai pasta (basah). Bumbu yang beredar tersebut ada yang dikemas wrap, dikemas plastik biasa, dan ada juga yang di tempatkan dalam wadah kemudian dikemas plastik apabila ada yang membelinya. Kebanyakan bumbu bentuk bubuk (kering) diproduksi oleh pabrik besar. Adapun bumbu giling pasta (basah) ada yang diproduksi oleh pabrik dan ada yang dibuat sendiri oleh penjualnya (home industry).

2.3.1 Bumbu Giling

Bumbu segar atau biasa disebut juga bumbu giling merupakan bumbu yang terbuat dari campuran berbagai rempah dalam keadaan segar yang telah dihaluskan (Yusmita, 2017). Umumnya beberapa bumbu giling diberi garam sampai konsentrasi 20% bahkan ada yang mencapai 30%.

Bumbu giling pasta racikan ada berbagai macam, yaitu seperti bumbu soto, bumbu gulai, kare, rendang, rawon, dan opor. Bumbu tersebut kebanyakan dijual dalam bentuk kemasan dan siap untuk digunakan, sehingga ada kemungkinan penggunaan pengawet. Pengawet tersebut ada yang berasal dari alami maupun sintesis kimia. Pengawet alami itu sendiri sudah berasal dari rempah-rempah bumbu maupun garam.



Gambar 2.2 Bumbu soto kemasan

Makanan soto banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena mudah dibuat dan cocok dengan selera orang Indonesia, bahkan beberapa daerah di Indonesia memiliki soto khasnya sendiri. Selain itu soto banyak dihidangkan saat acara besar seperti hajatan, pernikahan, dsb. Meskipun ada yang menggunakan bumbu segar namun banyak juga masyarakat yang menggunakan bumbu instan untuk membuat suatu masakan.

Bahan makanan yang berasal dari tumbuhan maupun hewan memiliki komposisi umum terdiri dari protein, karbohidrat dan lemak merupakan substrat yang sesuai dengan pertumbuhan dan perkembangan bakteri. Bila bakteri kontak dengan bahan makanan tersebut dengan kondisi lingkungan dan kebersihan pengolahan bahan dasar, pengemasan, dan penjualan yang tidak sesuai maka pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri patogen akan terjadi dapat menyebabkan berbagai penyakit diantaranya typhoid, diare, keracunan makanan dan penyakit infeksi lainnya (Siagian, 2002).

Hal-hal yang bisa menyebabkan terjadinya pencemaran adalah lingkungan tempat berjualan yang tidak bersih, becek, pemilihan bahan baku yang kurang baik dan tempat yang tidak sesuai menyebabkan kerusakan dan kontaminasi bakteri patogen.. Pedagang menjual bumbu giling tersebut dipasarkan dalam bentuk curah dalam wadah dan ditempatkan dalam kantong plastik diikat karet dan wadah tempat bawang putih giling biasanya terbuat dari baskom plastik tanpa tutup dan menggunakan sendok hanya satu

dengan cara bergantian (Rosaria,2007). Bila populasi bakteri dalam bahan makanan meningkat dapat menyebabkan kerusakan pangan dan sarana penularan beberapa penyakit menular (Supardi I dan Sukamto, 1999)

2.4 Analisis Mikrobiologis Bakteri *Salmonella sp.*

Penentuan kualitas bahan pangan diperlukan berbagai uji keamanan bahan pangan, salah satunya adalah uji mikrobiologi. Analisis mikrobiologi pangan adalah analisa yang digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme pada sampel uji pangan melalui pengujian laboratorium. Pengujian laboratorium dilakukan dalam rangka pengawasan mutu secara mikrobiologis untuk menghitung jumlah koloni, mengisolasi, dan mengidentifikasi cemaran bakteri patogen yang mungkin ada (Sudian, 2008).

Menurut Fardiaz (1993), uji mikrobiologi merupakan salah satu uji yang penting, karena selain dapat menduga daya tahan simpan suatu makanan, juga dapat digunakan sebagai indikator sanitasi makanan atau indikator keamanan makanan. Ada berbagai macam uji mikroba yang digunakan diantaranya adalah uji kuantitatif, uji kualitatif dan uji bakteri indikator. Uji kuantitatif bertujuan untuk menekan kualitas dan daya tahan suatu makanan, uji kualitatif bertujuan untuk menentukan tingkat keamanan suatu bahan pangan dan uji bakteri indikator bertujuan untuk menentukan tingkat sanitasi bahan pangan

Menurut Sudian (2008) metode-metode yang digunakan untuk pengujian mikrobiologi pangan yang ditentukan oleh persyaratan yang diacu adalah sebagai berikut:

1. Metode Kuantitatif (Enumerasi)

Pengujian secara kuantitatif yaitu menggunakan penghitungan jumlah mikroorganisme dan interpretasi hasil berupa koloni per ml/g atau koloni per 100 ml. Metode ini digunakan untuk mengetahui jumlah mikroorganisme yang ada pada suatu sampel, umumnya dikenal dengan angka lempeng total atau total plate count (ALT/TPC) dan Angka Paling Mungkin atau most probable number (APM/MPN). Uji angka lempeng total

(ALT) dan lebih tepatnya ALT aerob mesofil atau anaerob mesofil menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung, interpretasi hasil berupa angka dalam koloni (cfu) per ml/g atau koloni/100ml. Cara yang digunakan antara lain dengan cara tuang, cara tetes, dan cara sebar. Angka paling mungkin (MPN) menggunakan media cair dengan tiga replikasi dan hasil akhir berupa kekeruhan atau perubahan warna dan atau pembentukan gas yang juga dapat diamati secara visual, dan interpretasi hasil dengan merujuk kepada tabel MPN. Dikenal 2 cara yaitu metode 3 tabung dan metode 5 tabung. Metode kuantitatif dilakukan dengan beberapa tahap yaitu homogenisasi sampel, tahap pengenceran, tahap pencampuran dengan media (padat/cair), tahap inkubasi dan pengamatan, dilanjutkan dengan interpretasi hasil.

2. Metode Kualitatif (Pengkayaan)

Pengujian secara kualitatif dengan metode pengkayaan (enrichment) yaitu isolasi, identifikasi mikroorganisme, dan interpretasi hasil berupa negatif per 25 gram atau per 100 gram/ml. Identifikasi mikroorganisme patogen dapat dilakukan dengan cara konvensional maupun dengan pengujian cepat (rapid test). Pada metode kualitatif dilakukan perbanyakan terlebih dahulu dari sel mikroorganisme yang umumnya dalam jumlah yang sangat sedikit dan bahkan kadang-kadang dalam kondisi lemah. Metode kualitatif dilakukan dalam beberapa tahap yaitu tahap pengkayaan, tahap isolasi pada media selektif, tahap identifikasi dengan reaksi biokimia, dan dilanjutkan dengan analisa antigenik atau serologi atau imunologi dan bila diperlukan dapat juga dilakukan identifikasi DNA bakteri dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Metode isolasi *Salmonella sp.* pada makanan dapat dilakukan dengan cara konvensional atau metode alternatif lain. Secara konvensional, metode isolasi dapat dilakukan dengan media *Xylose Lysine Desoxycholate*

(XLD) agar, *Desoxycholate Citrate Agar* (DCA), *Desoxycholate Citrate Lactose Saccharose Agar* (DCLS), *Salmonella Shigella agar* (SSA), *Bismuth Sulphite Agar* (BSA), dan *Brilliant Green Agar* (BG) (Lim et al, 1980) dalam (Anjung, 2016).

2.4.1 Media pengujian

Media adalah suatu kumpulan zat-zat organik dan nonorganik yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri, virus, jamur, parasit (binatang bersel satu) dan mikroba dengan syarat-syarat tertentu, diantaranya derajat keasaman dan tingkat inkubasi tertentu. Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan yang diperlukan untuk mikroorganisme tumbuh. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi dari media berupa molekulmolekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel, dengan media pertumbuhan dapat dilakukan isolat mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga manipulasi komposisi media pertumbuhan (Pratiwi, 2011).

Menurut Waluyo (2007), penggunaan isolasi dengan medi seleksi dan diferensiasi dapat menumbuhkan biakan, artinya penggunaan beberapa jenis zat tertentu yang mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan dan perikembangbiakkan mikroba, banyak juga dilakukan dan digunakan. Sehingga masing-masing media mempunyai sifat (spesifikasi) tersendiri sesuai dengan maksudnya. Berdasarkan sifat-sifatnya, media dibedakan menjadi:

1. Media Dasar/ umum

Media dasar adalah media pembiakan sederhana yang mengandung zat-zat yang umum diperlukan oleh sebagian besar mikroorganisme dan dipakai juga sebagai komponen dasar untuk membuat media pembiakan lain.

2. Media Diperkaya

Media ini dibuat dari media dasar dengan penambahan bahan-bahan lain untuk mempersubur pertumbuhan mikroba

tertentu yang pada media dasar tidak dapat tumbuh dengan baik. Untuk itu dibutuhkan beberapa penambahan nutrisi pengaya kedalam media dasar yang dapat menyokong pertumbuhan mikroba, misalnya dengan menambahkan darah, serum atau ekstrak hati.

3. Media diferensial

Media ini digunakan untuk membedakan bentuk dan karakter koloni mikroba yang tumbuh. Beberapa mikroba dapat tumbuh di dalam media ini, tetapi hanya beberapa jenis saja yang mempunyai penampilan pertumbuhan yang khas. Media ini berfungsi untuk isolasi dan identifikasi bakteri.

4. Media Selektif

Media ini digunakan untuk menyeleksi pertumbuhan mikroba yang diperlukan dari campuran mikroba-mikroba lain yang terdapat dalam bahan yang akan diperiksa. dengan penambahan zat-zat tertentu mikroba yang dicari dapat dipisahkan dengan mudah. Media ini sangat berguna untuk identifikasi. Contohnya, Salmonella Shigella Agar (SSA) yang digunakan untuk mengisolasi bakteri jenis *Salmonella sp.* dan *Shigella sp.* Kandungan *Bile salts*, Na-sitrat, dan *Brilliant green* pada media SSA dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (+), sedangkan kandungan laktosa merupakan sumber karbohidrat, dan kandungan neutral red sebagai indicator pada media positif. Bakteri yang tidak dapat memfermentasi laktosa seperti spesies *Salmonella*, *Proteus* dan spesies *Shigella* muncul sebagai koloni yang tidak berwarna. Jika bakteri tumbuh dan memfermentasi laktosa maka akan menghasilkan asam dan mengubah indicator menjadi pink-merah, contohnya bakteri *Escherichia coli* atau *Klebsiella pneumoniae*. Kandungan Na-tiosulfat dalam media berfungsi sebagai media sulfur untuk produksi H₂S. Adanya koloni *Salmonella sp.* pada media dapat diamati dengan ciri

koloni tak berwarna (bening) sampai buram dengan bintik hitam (Hart dan Paul, 1997).

- **Uji Biokimia dengan Uji IMVIC (Indole, Methyl red, Voges Proskauer dan Citrat) dan KIA**

- 1. Methyl Red-Voges Proskauer (MR-VP)**

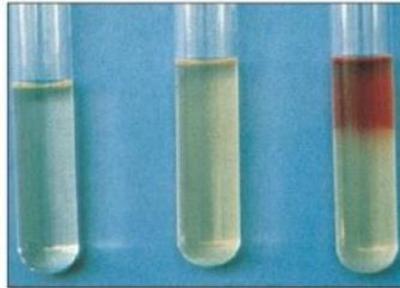
Uji MR (methyl red), bertujuan untuk mendeteksi kemampuan organisme dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa. Beberapa bakteri menghasilkan sejumlah besar asam dari fermentasi. *Methyl red* adalah indikator pH, yang tetap berwarna merah pada pH 4,4 atau kurang (Sridhar, 2006). Setelah inkubasi, indikator pH di bawah 4,4 (hal ini menunjukkan hasil positif) dan kuning pada pH di atas 6,0. Warna kuning menunjukkan pH menengah dan dianggap hasil negatif (Hemraj, 2013). Hasil pengamatan uji MR pada isolat bakteri *Salmonella sp.* adalah positif yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah pada keadaan asam dan hasil negative berubah menjadi warna kuning pada keadaan basa.



Gambar 2.3 Hasil Uji Metil Red (James G,Sherman N.2014)

Sedangkan Tes yang digunakan untuk mendeteksi acetoin dalam kultur cair bakteri adalah uji VP (*Voges Proskauer*). Pada uji VP ditambahkan 5% larutan *alpha-naftol* dan indikator KOH 40% sehingga dapat menentukan adanya asetoin dengan

perubahan warna merah menunjukkan hasil yang positif, sedangkan warna kuning-coklat menunjukkan hasil negative (43,46). Perubahan media menjadi warna merah menandakan keadaan asam, dan warna kuning yang menandakan keadaan basa.



Gambar 2.4 Hasil Uji VP (James G, Sherman N.2014)

2. Uji SIM (*Sulfide Indole Motility*)

Media SIM merupakan media semisolid yang direkomendasikan untuk uji kualitatif pada bakteri Gram negatif untuk melihat produksi sulfid, pembentukan indole, dan pergerakan bakteri. Uji Indole adalah untuk melihat kemampuan bakteri menghasilkan indol dengan menggunakan enzim typtophanase. Produksi indol di dalam media dimungkinkan karena adanya tryptophan. Bakteri yang memiliki enzim tryptophanase akan menghidrolisis tryptophan menjadi indol, piruvat, dan amonia (Hemraj, 2013). Tryptophan adalah asam amino esensial, yang teroksidasi oleh beberapa bakteri yang mengakibatkan pembentukan indol dan amonia.

Indol yang dihasilkan dideteksi dengan menambahkan reagen kovac yang akan menghasilkan cincin berwarna merah (Sridhar, 2006). Hasil uji indol pada isolat bakteri *Salmonella sp.* adalah negatif dengan tidak menampakkan cincin merah pada bagian atas, melainkan berwarna kuning.



Gambar 2.5 Hasil Uji Indole (James G, Sherman N.2014)

3. Uji Citrate

Kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan karbon sebagai satu-satunya sumber energi adalah dengan melakukan uji sitrat. Uji Sitrat menggunakan media SCA (*Simmon Citrate Agar*) yang merupakan medium sintetik dengan Na sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

Bakteri diinokulasi pada medium yang mengandung natrium sitrat dan indikator pH bromothymol biru. Media juga mengandung garam amonium anorganik yang digunakan sebagai satu-satunya sumber nitrogen. Pemanfaatan sitrat melibatkan enzim *citrate permease*, yang memecah sitrat menjadi oksaloasetat dan asetat. Oksaloasetat lebih lanjut dipecah mejadi piruvat dan CO₂. Produksi Na₂CO₃ serta NH₃ dari pemanfaatan natrium sitrat dan garam amonium masing-masing menghasilkan pH basa. Hal ini menyebabkan perubahan warna medium dari hijau menjadi biru (Hemraj, 2013).

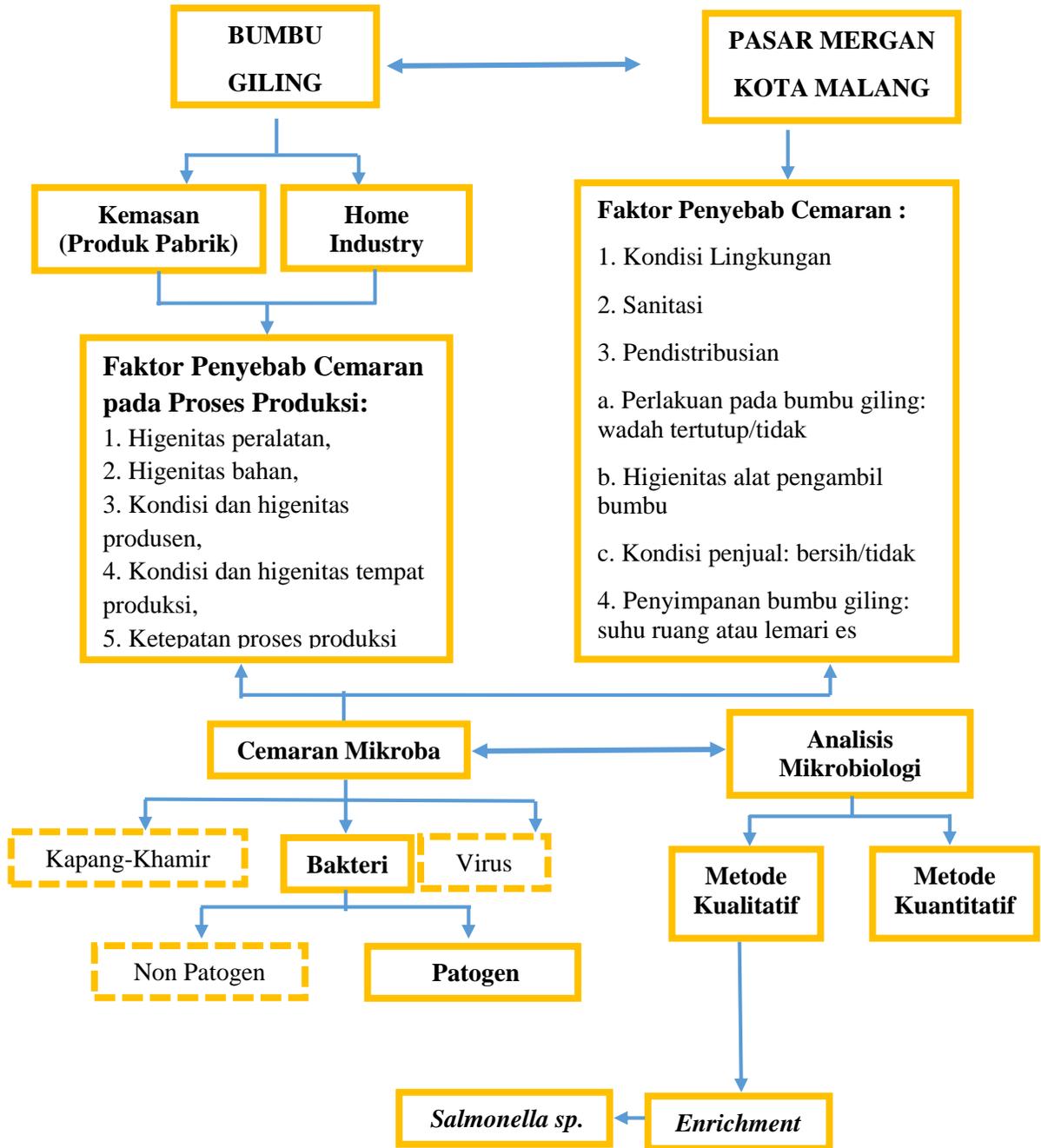


Gambar 2.6 Hasil Uji Sitrat (Mahon C,dkk.2015)

4. Uji KIA

KIA adalah suatu medium gabungan yang mengandung glukosa, laktosa, fenol merah, dan ferri sitrat (Hart dan Paul, 1997). Uji ini bertujuan untuk mengetahui terjadinya fermentasi glukosa dan laktosa, pembentukan gas dari glukosa serta produksi Hidrogen Sulfida (H_2S). Mengamati terjadinya perubahan warna untuk *Salmonella sp.* bagian dasar akan memfermentasikan glukosa, warna media dari kuning tetap kuning atau menjadi hitam, dapat membentuk gas H_2S sedangkan pada bagian tebing *Salmonella* akan memfermentasikan laktosa, warna media dari kuning menjadi merah atau hitam.

2.5 KERANGKA KONSEP



Keterangan :



Diteliti



Tidak diteliti