

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Pangan**

Pangan merupakan segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, yang diolah maupun tidak diolah, diperuntukkan bagi manusia sebagai makanan atau minuman, yang termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan pembuatan makanan atau minuman. Pangan olahan merupakan makanan atau minuman yang didapatkan dari suatu proses dengan cara atau metode tertentu dengan atau tanpa bahan tambahan. Pangan bukan sekedar sebagai sumber kalori, protein, dan mineral saja, pangan dapat dimanfaatkan untuk mencegah penyakit, mengobati penyakit, dan memperbaiki kesehatan. Istilah pangan umumnya digunakan sebagai istilah teknis seperti teknologi pangan, produksi pangan, dan bahan tambahan pangan. Sedangkan istilah makanan digunakan pada pangan yang telah mengalami proses pengolahan (Winarno, 2007). Menurut UU No. 18 Tahun 2012 tentang Pangan, definisi pangan yaitu segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan, dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan Pangan, bahan baku Pangan, dan bahan lainnya yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan/atau pembuatan makanan atau minuman (Pemerintah Indonesia, 2012).

#### **2.2. Keamanan Pangan**

Menurut Undang-Undang Nomor 86 Tahun 2019 tentang Keamanan Pangan, definisi dari keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah Pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga aman untuk dikonsumsi (Pemerintah Indonesia, 2019). Pangan yang tidak aman akan menyebabkan penyakit yang disebut *foodborne disease*. *Foodborne disease* merupakan gejala penyakit yang disebabkan oleh pangan yang mengandung bahan

atau senyawa beracun ataupun organisme patogen. Dari segi gizi, pangan yang tidak aman yaitu pangan yang memiliki kandungan gizi berlebih sehingga dapat menyebabkan penyakit *degenerative* seperti penyakit jantung, kanker, dan diabetes. Dari segi kontaminasi, pangan yang terkontaminasi mikroorganisme atau bahan kimia merupakan pangan yang tidak aman (Sucipto, 2015).

### 2.3. Produk Perikanan

Hasil produk perikanan adalah semua makhluk hidup yang hidup di lingkungan perairan seperti laut, waduk, sungai, kolam, tambak, dan lingkungan perairan lainnya. Makhluk hidup yang termasuk pada produk perikanan diantaranya yaitu ikan, udang-udangan, kerang-kerangan, moluska, dan tumbuhan seperti alga, rumput laut, dan lainnya (Wijayanti dkk., 2010). Definisi produk hasil perikanan menurut PerMenKP RI No. 74 Tahun 2016 tentang Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan yang Masuk ke Dalam Wilayah Negara Republik Indonesia yaitu ikan yang ditangani, diolah, dan/atau dijadikan produk akhir berupa ikan segar, ikan beku, dan olahan lainnya. Sedangkan ikan didefinisikan sebagai segala jenis organisme yang seluruh atau sebagian dari siklus hidupnya berada di dalam lingkungan perairan (Menteri Kelautan dan Perikanan, 2016).

Produk perikanan dibagi menjadi beberapa jenis produk diantaranya, yaitu :

1. Produk hidup.
2. Produk segar (*fresh product*) yang melalui proses pendinginan.
3. Produk beku (*frozen product*), berupa prroduk mentah (*raw*) atau masak (*cooked*) yang melalui proses pembekuan.
4. Produk kaleng (*canned product*) yang melalui proses pemanasan dengan suhu tinggi (sterilisasi) dan pasterisasi.
5. Produk kering (*dried product*) yang melalui proses pengeringan alami atau mekanis.
6. Produk asin kering (*dried salted product*) yang melalui proses penggaraman dan pengeringan alami atau mekanis.
7. Produk asap (*smoked product*) yang melalui proses pengasapan.
8. Produk fermentasi (*fermented product*) yang melalui proses fermentasi.

9. Produk masak (*cooked product*) yang melalui proses pemasakan/pengukusan.
10. *Surimi based product*, yang melalui proses *leaching* atau pengepresan (*minched*) (Menteri Perdagangan, 2014).

#### 2.4. Udang

Udang merupakan salah satu produk perikanan yang memiliki banyak manfaat untuk Kesehatan serta memiliki rasa yang nikmat. Udang terbagi menjadi 2 bagian dimana bagian kepala menyatu dengan dada (*cephalothorax*) dan bagian badan (*abdomen*) dengan ekor dibagian belakang sebagaimana terdapat pada gambar 2.1. Udang memiliki tubuh beruas-ruas yang tertutup kulit kitin yang tebal dan keras. Berat kepala udang umumnya lebih berat dari berat dagingnya. Berat kepala udang kurang lebih 36-49% dari total berat badan sedangkan berat daging dan kulit udang sebesar 24-41% dan 17-23% dari total berat badan udang (Soegiarto, 2013).



**Gambar 2.1. Udang**

Sumber : (Syafrudin, 2016)

Udang merupakan komoditas yang diminati sehingga dapat menjadi peluang budidaya dan pemasaran baik di dalam maupun ke luar negeri. Udang memiliki daging yang lembut dan mudah diolah. Beberapa olahan yang dapat dibuat dari udang yaitu kerupuk, bakwan, dan terasi. Olahan udang umumnya bergantung pada jenisnya. Adapun jenis-jenis udang diantaranya yaitu :

1. Udang Jerbung (*Penaeus merguensis*)

Udang jerbung sering disebut juga dengan udang putih (I). Udang ini memiliki ciri-ciri kulit yang tipis dan licin, berwarna putih kekuningan dengan bintik hijau serta ada yang berwarna kuning kemerahan.

2. Udang Flower (*s*)

Udang ini berwarna hijau kehitaman dengan garis melintang coklat, kulit dan kakinya sedikit kemerahan. Corak warnanya seperti bunga sehingga dikenal dengan nama dagang *flower shrimp*.

3. Udang Windu / Pacet / Tiger (*Penaeus monodon*)

Udang ini memiliki kulit yang tebal dan keras, berwarna hijau kebiruan dengan garis melintang yang lebih gelap, ada juga yang berwarna kemerahan dengan garis melintang coklat kemerahan.

4. Udang Cokong / Tokal / Galah / Fresh Water (*Macrobrachium sp*)

Udang ini merupakan udang air tawar dan memiliki warna yang bermacam-macam, diantaranya hijau kebiruan, hijau kecoklatan, kuning kecoklatan dan berbercak seperti udang windu tetapi berbentuk lebih bulat.

5. Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*)

Udang ini memiliki kulit yang tebal dan kasar, berwarna merah muda sedikit kekuningan. Nama dagangnya adalah *pink shrimp*, dan yang berwarna kuning kehijuan disebut *yellow white shrimp*.

6. Udang Sikat/Kipas (*Panulirus sp*)

Udang ini seperti lobster namun memiliki ukuran yang lebih kecil serta kulit lebih lunak dan sedikit kasar. Udang ini memiliki warna kulit kecoklatan bergaris melintang.

7. Udang Karang / Barong (*Panulirus sp*)

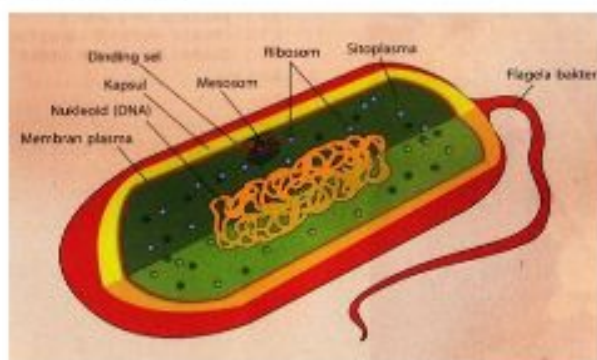
Udang ini mirip seperti udang sikat namun dengan ukuran yang besar dan kulit yang keras. Udang ini memiliki warna yang bermacam, diantaranya hijau, coklat, coklat kemerahan dan hitam kebiruan, biasanya berbintik-bintik putih, merah atau coklat. Udang ini lebih dikenal dengan nama dagang lobster (Syafrudin, 2016).

## 2.5. Mutu Udang

Menurut BPOM, (2019b), pengertian dari udang segar yaitu semua jenis udang yang baru ditangkap/dipanen yang mengalami perlakuan pencucian, dengan atau tanpa pemotongan kepala, sortasi dan penimbangan, pengepakan, pengemasan, dan pelabelan. Bahan baku udang harus bersih, tidak berbau busuk, bebas dari tanda pembusukan dan sifat alamiah lain yang dapat menurunkan mutu dan membahayakan Kesehatan. Mutu udang dapat ditentukan berdasarkan kesegarannya. Secara organoleptik, udang segar harus memiliki penampakan yang bening, antar ruasnya kokoh dengan kulit yang melekat kuat pada daging, berbau segar serta memiliki tekstur yang elastis dan padat (Risal, 2017).

## 2.6. Bakteri

Bakteri merupakan organisme uniseluler yang sederhana yang disebut sel prokariot karena tidak memiliki membran inti sel. Secara umum, bakteri memiliki beberapa bentuk sel, di antaranya yaitu bentuk basil (batang), kokus (hulat), dan spirilia (spiral). Struktur sel bakteri terdapat pada gambar 2.2. Proses reproduksi bakteri disebut dengan pembelahan biner. Proses pembelahan biner terjadi dengan cara membelah diri menjadi dua sel dengan ukuran yang sama. Bakteri mengandung kompleks karbohidrat dan protein pada dinding sel yang disebut dengan peptidoglikan. Beberapa bakteri dapat membuat makanan sendiri melalui proses biosintesis sedangkan beberapa bakteri lain mendapatkan nutrisi dari substansi organik. Bakteri mendapatkan nutrisi dengan menggunakan bahan kimia organik yang secara alami didapatkan dari organisme hidup ataupun organisme yang sudah mati (Radji, 2018).



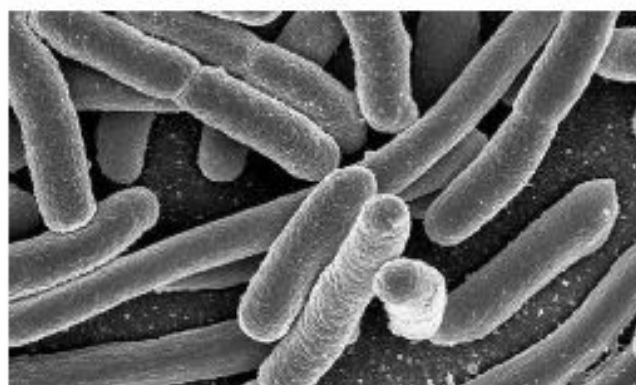
**Gambar 2.2. Struktur sel bakteri**

Sumber : (Silaban, 2019)

## 2.7. Bakteri *Escherichia coli*

### 2.7.1. Morfologi, taksonomi, dan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek (kokobasil) dengan panjang  $2\mu\text{m}$ , diameter  $0,7\mu\text{m}$ , dan lebar  $0,4-0,7\mu\text{m}$  serta memiliki flagel dan simpai (Radji, 2018). Bentuk bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar 2.3. Bakteri ini tidak memiliki spora dengan sel yang bisa berpasangan ataupun tunggal serta memiliki rantai pendek dan umumnya tidak berkapsul. *E. coli* merupakan bakteri yang tidak memiliki nukleus dan organelnya terbungkus membran atau sitoskeleton. Bakteri *E. coli* memiliki pili yang merupakan filament tipis untuk menangkap substrat spesifik dan flagel yang berupa filament tipis yang lebih panjang dari pili sebagai alat gerak (Allung, 2019).



**Gambar 2.3. Bakteri *Escherichia coli***

Sumber : (Silaban, 2019)

Klasifikasi dari bakteri *E. coli* yaitu,

- Kingdom : *Bacteria*
- Filum : *Proteobacteria*
- Kelas : *Gamma proteobacteria*
- Ordo : *Enterobakteriales*
- Family : *Enterobacteriaceae*
- Genus : *Escherichia*
- Spesies : *Escherichia coli* (Allung, 2019)

Bakteri ini berasal dari famili *Enterobacteriaceae* yang merupakan bakteri mesofilik sehingga mudah berkembang pada berbagai sumber air dan makanan. *Enterobacteriaceae* dapat tahan terhadap kerusakan akibat suhu rendah sehingga umumnya dapat ditemukan pada tanah, limbah, air, dan berbagai makanan dalam periode waktu yang lama. (Cappucino & Sherman, 2019). Suhu pertumbuhan yang baik bagi *E. coli* yaitu pada suhu 15-45°C selain itu *E. coli* dapat hidup pada pH 5,5-8. Namun suasana yang paling optimal untuk pertumbuhan bakteri *E. coli* yaitu pada suhu 35-37°C dan pada pH 7-7,5. Bakteri *E. coli* dapat bertahan hidup pada kondisi sulit seperti pada saluran pencernaan dengan lingkungan asam dan tekanan osmotik. *E. coli* juga dapat hidup di luar saluran pencernaan dengan kondisi lingkungan lebih dingin, aerobik, dan kandungan nutrisi yang lebih sedikit. Penyebaran bakteri *E. coli* dari tubuh manusia terjadi melalui feses (Rahayu dkk., 2018; Silaban, 2019).

### **2.7.2. Patogenitas bakteri *Escherichia coli***

*E. coli* merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada saluran cerna (Radji, 2018). Kontaminasi *E. coli* pada makanan dapat menyebabkan *eritema nodosum*, *sidrom hemolitikuremik*, *artropati seronegatif*, *purpura trombositopenik trombotik*. Pasien anak-anak yang terjangkit *E. coli* dapat mengalami *sindrom uremik hemolitik* dengan tanda terjadinya gagal ginjal akut (Hartono, 2006). Bakteri *E. coli* dapat ditemukan pada kotoran atau *flora periuretra*, bakteri ini dapat menginfeksi kandung kemih yang akan menyebabkan *pielonefritis akut* yang dapat mengganggu kesehatan ginjal. Bakteri *E. coli* juga dapat menyebabkan meningitis terutama pada bayi, diare, dan sepsis. Sepsis merupakan kondisi median akibat respon imun terhadap infeksi, bakteri *E. coli* dapat masuk ke dalam aliran darah sehingga menyebabkan sepsis jika kondisi tubuh tidak optimal (Widodo, 2016).

### **2.7.3. Sifat biokimia**

Sifat biokimia dapat digunakan untuk membedakan satu bakteri dengan bakteri lainnya. Setiap bakteri memiliki sifat biokimia yang berbeda sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu bakteri. Uji biokimia yang umum dilakukan yaitu uji IMViC yang terdiri dari uji indol, uji MR-VP, dan uji sitrat. Selain uji tersebut terdapat juga uji lain seperti uji motil, uji urea, uji TSIA, uji

glukosa, uji fermentasi laktosa dan sukrosa (Widodo, 2016). Sifat biokimia dari bakteri *Eschericia coli* disusun dalam tabel 2.1.

**Tabel 2.1. Uji biokimia bakteri *E. coli***

Uji Biokimia	Hasil
Indol	+
MR	+
VP	-
Sitrat	-
Motil	+
Urea	-
TSIA	-
Glukosa	+
Fermentasi Laktosa	+
Fermentasi Sukrosa	+

Sumber : (Gillespie & Hawkey, 2006)

### **2.8. Metode Angka Paling Mungkin (APM)**

Metode APM dapat juga disebut dengan metode MPN (*Most Probable Number*) yang merupakan perkiraan jumlah unit tumbuh (*growth unit*) atau unit pembentuk koloni (*colony-forming unit*) pada sampel. Pada metode ini digunakan media cair dalam tabung reaksi yang perhitungannya dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif yang ditumbuhi mikroorganisme setelah dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Sampel yang digunakan dapat berupa sampel cair maupun padatan. Sampel padatan terlebih dahulu dibuat suspensi 1:10 dari sampel tersebut. Metode ini memiliki akurasi yang dapat ditingkatkan berdasarkan banyaknya tabung pada pengenceran. Selain itu kelebihan lainnya dari metode APM yaitu memiliki sensitivitas yang lebih baik daripada metode *plate count* dan cocok untuk sampel dengan konsentrasi rendah (Dhafin, 2017; Silaban, 2019).

Prinsip dari metode APM yaitu mengencerkan sampel hingga didapatkan konsentrasi mikroorganisme yang sesuai. Pengamatan hasil positif yang dilakukan pada tabung yaitu media yang berubah menjadi keruh dan adanya gas dalam tabung durham yang terbalik. Satuan yang digunakan yaitu per 100 mL atau per gram. Makin kecil nilai APM maka kualitas sampel makin bagus dan begitu pula sebaliknya. Makin besar nilai MPN maka kualitas sampel makin buruk. Penentuan



nilai APM dilakukan dengan membandingkan hasil tabung positif yang didapatkan dengan tabel APM (Dhafin, 2017; Silaban, 2019).

Metode APM terdiri dari tiga proses pengujian yaitu uji praduga, uji penegasan, dan uji pelengkap.

1. Uji Praduga

Uji praduga merupakan uji kuantitatif menggunakan metode MPN yang ditandai dengan terbentuknya asam dan gas hasil fermentasi laktosa oleh bakteri. Terbentuknya asam dapat diidentifikasi dengan perubahan media menjadi keruh sedangkan terbentuknya gas dapat dilihat dari tabung Durham yang terdapat gelembung didalamnya. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C. Hasil tabung positif kemudian dibandingkan dengan tabel APM.

2. Uji Penegasan

Hasil positif pada uji praduga dilanjutkan dengan uji penegasan. Sampel positif diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C. Pengamatan yang dilakukan sama dengan pengamatan pada uji praduga yaitu pengamatan pada kekeruhan dan ada tidaknya gelembung. Serta hasil positif pada tabung juga dibandingkan dengan tabel APM.

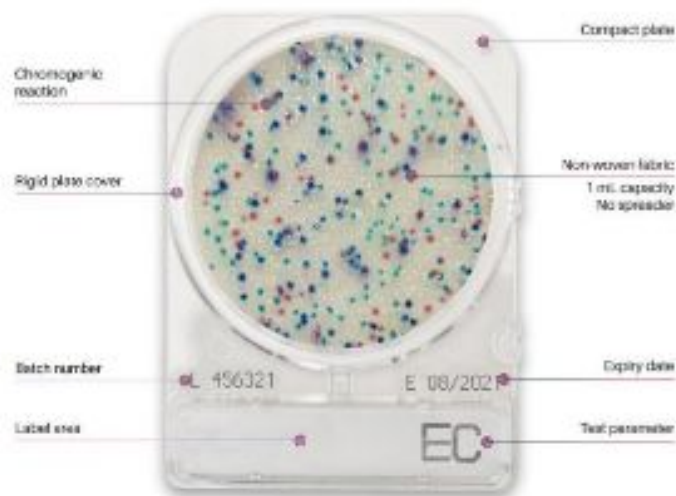
3. Uji Pelengkap

Pada uji pelengkap, hasil positif pada uji penegasan diinokulasikan pada media dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Media yang digunakan pada uji pelengkap merupakan media agar (Dhafin, 2017).

## **2.9. Compact Dry**

*Compact dry* merupakan media pengujian untuk mendeteksi dan mengidentifikasi kontaminasi mikroba secara mudah dan cepat. Metode ini membutuhkan sedikit bahan dan waktu serta dapat meningkatkan proses *quality control*. Media *compact dry* merupakan media selektif berukuran 20 cm<sup>2</sup> untuk menumbuhkan koloni bakteri sehingga akan menumbuhkan koloni dengan warna yang spesifik. *Compact dry* dilengkapi dengan penutup untuk meminimalisir adanya kontaminasi atau tumpahan, selain itu *compact dry* memiliki bentuk yang

kokoh dan kecil sehingga mudah untuk ditumpuk dan ringkas. Bentuk *Compact dry* terdapat pada gambar 2.4. *Compact dry* dapat digunakan untuk pengujian bahan baku pangan, produk makanan olahan, dan kosmetik (Nissui Pharmaceutical, 2021).



**Gambar 2.4. Compact Dry EC**

Sumber : (Nissui Pharmaceutical, 2021)

Prosedur penggunaan *compact dry* yaitu,

1. Tuliskan data sampel pada area label
2. Buka penutup
3. Inokulasikan 1 mL larutan sampel, larutan sampel akan menyebar dengan sendirinya pada media *compact dry*
4. Tutup kembali penutupnya
5. Inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai
6. Hitung koloni dan dinyatakan dalam CFU/mL (Nissui Pharmaceutical, 2021)

## 2.10. Uji Biokimia

Uji biokimia merupakan uji untuk mengetahui sifat fisiologis koloni bakteri. Uji biokimia dapat dilakukan dengan mengamati sifat morfologi koloni, morfologi sel bakteri, pengujian sifat-sifat fisiologi dan biokimianya. Uji biokimia yang umumnya dilakukan pada bakteri *E. coli* yaitu uji IMViC dan uji produksi gas laktosa (Purnamawati, 2016; Sulistiani & Hafiludin, 2022).

### 2.10.1. Uji IMViC

Uji IMViC merupakan uji diferensiasi dari bakteri *Enterobacteriaceae* yang merupakan kelompok bakteri patogen pada sistem pencernaan. Bakteri yang termasuk dalam *Enterobacteriaceae* diantaranya yaitu bakteri dari genus

*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, dan *Proteus*. Prosedur uji IMViC didasarkan pada sifat biokimia dan reaksi-reaksi enzimatik dari bakteri setelah diberikan substrat yang spesifik. Uji IMViC terdiri dari beberapa seri uji yaitu uji indol, uji metil merah, uji *voges-proskauer*, dan uji penggunaan sitrat (Cappucino & Sherman, 2019).

#### 1. Uji indol

Uji indol merupakan uji untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam mengurai asam amino triptofan. Triptofan merupakan asam amino esensial yang mengalami oksidasi akibat dari aktivitas enzimatik dari beberapa bakteri. Kemampuan mikroorganisme untuk menguraikan triptofan tidak dimiliki oleh semua mikroorganisme sehingga dapat digunakan sebagai indikator penanda biokimia. Penguraian asam amino triptofan dibantu dengan adanya enzim triptofanase sehingga media yang digunakan pada uji indol yaitu media agar SIM yang mengandung substrat triptofanase (Cappucino & Sherman, 2019).

Pereaksi yang digunakan yaitu pereaksi Kovac yang terdiri dari P-dimetilaminobenzaldehida, butanol, dan asam hidroklorida. Biakan yang menghasilkan cincin merah pada bagian atas media setelah penambahan pereaksi Kovac menunjukkan hasil positif uji Indol. Reaksi negatif indol ditandai dengan tidak adanya cincin merah pada bagian atas media sehingga menunjukkan bahwa substrat triptofan tidak mengalami hidrolisis (Cappucino & Sherman, 2019).

#### 2. Uji metil merah

Uji metil merah ditujukan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasi glukosa yang disertai pembentukan dan stabilisasi produk akhir berupa asam berkonsentrasi tinggi. Selain itu uji ini berfungsi untuk membedakan organisme enterik fermenter glukosa terutama bakteri *E. coli* dan *E. aerogenes*. Glukosa merupakan substrat utama untuk membentuk energi (Cappucino & Sherman, 2019).

Pada uji ini digunakan pereaksi indikator pH metil merah untuk mendeteksi produk akhir asam dengan konsentrasi tinggi. Umumnya produk akhir yang dihasilkan akan berbeda berdasarkan jalur enzimatik

spesifik bakteri. Pada *E. coli* menghasilkan produk akhir berupa pH asam rendah yang stabil pada akhir inkubasi. Pada periode inkubasi berikutnya, *E. aerogenes* mengubah asam organik tersebut menjadi produk akhir non-asam sehingga pH akan naik menjadi sekitar 6. Hasil positif dari uji metil merah ditandai dengan adanya perubahan menjadi merah yang menunjukkan pH 4. Sedangkan jika terbentuk warna kuning maka menunjukkan pH 6 yang merupakan hasil negatif uji metil merah (Cappucino & Sherman, 2019).

### 3. Uji *voges-proskauer*

Uji *Voges-Proskauer* merupakan uji untuk membedakan organisme enterik seperti *E. coli*, *E. aerogenes*, dan *K. Pneumoniae* berdasarkan kemampuannya membentuk produk akhir non-asam atau netral. Pereaksi yang digunakan yaitu pereaksi barrit yang terdiri dari campuran senyawa alkohol  $\alpha$ -naftol dan larutan kalium hidroksida 40%. Terbentuknya warna merah tua 15 menit setelah penambahan pereaksi pada biakan menunjukkan hasil positif dengan adanya asetilmetilkarbinol dan hasil negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna merah (Cappucino & Sherman, 2019).

### 4. Uji sitrat

Uji penggunaan sitrat dilakukan untuk membedakan organisme enterik berdasarkan kemampuannya memfermentasi sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Sitrat merupakan sumber karbon yang dapat digunakan jika tidak ada glukosa dan laktosa sebagai sumber karbon yang dapat difermentasi oleh bakteri. Kemampuan memfermentasi sitrat sebagai sumber karbon bergantung pada adanya sitrat permease (Cappucino & Sherman, 2019).

Sitrat merupakan senyawa utama pertama dalam siklus krebs yang dihasilkan dari kondensasi asetil aktif dengan asam oksaloasetat. Sitrat diaktifkan oleh enzim sitrase sehingga menghasilkan asam oksaloasetat dan asetat yang kemudian diubah secara enzimatik menjadi asam pituvat dan karbon dioksida. Pada reaksi tersebut, media akan menjadi basa karena karbon dioksida yang dihasilkan bereaksi dengan natrium dan air membentuk natrium karbonat yang bersifat basa. Media yang bersifat basa

akan mengubah indikator bromtimol biru menjadi berwarna biru prusia tua dari warna awal yaitu hijau yang menunjukkan hasil positif. Jika tidak terjadi perubahan warna pada media menjadi biru maka menunjukkan hasil negatif uji sitrat (Cappucino & Sherman, 2019).

#### **2.10.2. Uji produksi gas laktosa**

Uji produksi gas laktosa merupakan salah satu uji biokimia fermentasi karbohidrat. Laktosa merupakan sumber karbohidrat bagi bakteri. Bakteri yang memfermentasi laktosa akan menghasilkan produk akhir berupa asam dan gas. Pada uji produksi gas laktosa digunakan tabung reaksi yang berisi tabung durham terbalik. Hasil positif pada uji ini ditandai dengan adanya perubahan warna media menjadi keruh dan terbentuknya gelembung pada tabung durham. Kekeruhan yang terbentuk diakibatkan karena asam yang dihasilkan oleh bakteri ketika memfermentasi laktosa. Selain itu, proses fermentasi laktosa oleh bakteri juga menghasilkan produk akhir berupa gas yang dapat terlihat pada tabung durham (Dhafin, 2017).