

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Telur

2.1.1. Definisi



Gambar 2. 1 Telur Ayam Kampung

(sumber: <https://kesehatan.kontan.co.id/>)

Telur adalah substansi yang dihasilkan oleh hewan ternak dari dalam tubuhnya yang dapat membentuk organisme/kehidupan baru. Telur memiliki sumber protein hewani yang memiliki rasa lezat, mudah dicerna dan bergizi tinggi yang memberikan sumbangan besar bagi tercapainya gizi masyarakat. Sebutir telur didapatkan gizi yang cukup sempurna karena mengandung zat-zat gizi yang lengkap dan mudah dicerna. Selain karena gizi yang tinggi telur juga mudah diperoleh dan harganya terjangkau serta dapat dimanfaatkan sebagai lauk, bahan pencampur berbagai makanan, tepung telur, obat, dan lain sebagainya. Sifat fungsional pada telur dapat dikelompokkan dalam tujuh macam sifat atau kemampuan yaitu sifat mengembang atau membentuk rongga-rongga, membentuk busa atau buih, membentuk emulsi, penstabil, berkoagulasi, membentuk tekstur, dan memberi rasa (Soekarto, 2013)

2.1.2. Struktur

Telur memiliki struktur khusus karena telur mengandung zat gizi yang disediakan untuk perkembangan sel telur yang telah dibuahi menjadi seekor ayam. Secara umum telur terdiri dari tiga bagian yaitu kulit/cangkang telur, putih telur, dan kuning telur. Pada seluruh permukaan kulit telur terdapat pori-pori berukuran 0,01-1,07 mm yang berguna dalam pertukaran

gas terutama untuk memenuhi kebutuhan embrio dalam telur. Pada telur yang masih baru, pori-pori ini masih dilapisi dengan lapisan tipis kutikula yang terdiri dari 90% protein dan sedikit lemak. Lapisan tipis kutikula ini berfungsi untuk mengurangi penguapan air yang terlalu cepat dan mencegah mikroba untuk masuk melalui kulit telur. (Warsito, 2015)

Cangkang telur terdiri dari empat lapisan yaitu: lapisan kutikula yang merupakan lapisan paling luar yang menyelubungi seluruh permukaan telur, lapisan bunga karang yang terletak di bawah kutikula, lapisan mamila yang merupakan lapisan ketiga dan sangat tipis dan lapisan membrane yang terletak paling dalam. (Sarwono, Pengawetan Dan Pemanfaatan Telur, 1994). Fungsi utama cangkang telur adalah sebagai pelindung isi telur dari mikroorganisme dan melindungi perkembangan embrio selain itu cangkang telur berfungsi untuk pertukaran gas respirasi. Cangkang dan putih telur terpisah oleh selaput membrane, sedangkan kuning telur dan albumen (putih telur) terpisah oleh membran kuning telur. Kualitas cangkang telur dipengaruhi oleh ketebalan cangkang dan keporositasan yang berfungsi untuk mengatur pertukaran oksigen, karbondioksida, dan uap air. Apabila cangkang telur semakin tipis, maka moisture loss/kehilangan air semakin tinggi. Bahwa kerabang telur bersifat kuat, halus dan berkapur. Bagian cangkang juga merupakan bagian telur yang paling kuat disusun oleh 95% garam-garam anorganik, 3,3% bahan organik, dan 1,6% air. Adapun bahan anorganik yang menyusun cangkang telur adalah kalsium (Ca), magnesium (Mg), fosfor (P) dan balerang (S). (Sarwono, Pengawetan Dan Pemanfaatan Telur, 1994)

Bagian putih telur terdapat diantara kulit telur dan kuning telur dan sering disebut juga dengan albumin yang lebih banyak mengandung protein. Putih telur mempunyai presentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan kuning telur. Putih telur mempunyai empat bagian utama yaitu lapisan putih telur encer bagian luar, lapisan putih telur kental, lapisan putih telur encer bagian dalam dan lapisan kalaza. Kalaza adalah serabut-serabut protein berbentuk spiral yang berfungsi untuk mengikat putih telur dengan bagian kuning telur. Putih telur mengandung protein yang tinggi yang tersusun dari

ovalalbumin (Ramadhani, Herlina, & Pratiwi, 2018). Menurut (Sarwono, Pengawetan Dan Pemanfaatan Telur, 1994) Putih telur mengandung 5 jenis protein yakni ovalbumin, ovomakoid, ovomucin, ovokonalbumin, dan ovoglobulin. Ovalbumin merupakan zat protein yang paling banyak terdapat pada bagian putih telur yaitu sekitar 75% .

Kuning telur mengandung uap basah dan kuning padat (yolk solid). Semakin bertambah usia telur maka telur akan mengambil uap basah dari putih telur yang mengakibatkan kuning telur semakin menipis. Menurut (Sarwono, Pengawetan Dan Pemanfaatan Telur, 1994) komposisi gizi pada kuning telur terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin. Dalam kuning telur disimpan banyak mayoritas lemak dengan presentase sekitar 32%. (Abbas, Paly, & Rifaid, 2021)

2.1.3. Kerusakan telur

Telur dapat mudah rusak dan busuk, kerusakan telur dapat dilihat dari bentuk, keutuhan, warna, tekstur, dan kebersihan kulitnya. Telur segar hanya mempunyai masa simpan yang pendek apabila disimpan di ruangan terbuka. Semakin lama disimpan kualitas dan kesegaran telur akan semakin turun. Kerusakan telur oleh bakteri terjadi ketika mikroorganisme masuk dalam telur melalui pori-pori yang terdapat pada permukaan kulit telur. Ada dua cara masuknya bakteri ke dalam telur yaitu secara langsung melalui kuning telur dan albumen dari ovari induk ayam yang terinfeksi dan secara tidak langsung yaitu bakteri masuk melalui pori-pori cangkang. (Winarno & Sutrisno, 2002)

Umumnya untuk telur konsumsi akan mengalami kerusakan setelah disimpan lebih dari 2 minggu yang ditandai dengan kocaknya isi telur dan isinya tidak mengumpul apabila dipecah. sedangkan telur yang masih segar memiliki kondisi luar yang baik, bentuk kulit yang cukup tebal, tekstur permukaan dan warnanya bagus serta bersih. Bila terpotong rongga udaranya kecil, kuning telur ditengah, dan tidak terdapat bercak atau noda darah. (Asih, 2010)

2.2. Mikroorganisme

2.2.1. Definisi

Mikroorganisme atau mikroba merupakan organisme hidup yang berukuran sangat kecil dan hanya dapat diamat dengan menggunakan mikroskop. Mikroorganisme tersusun atas satu sel (uni seluler) dan beberapa sel (multiseluler). Organisme yang termasuk kedalam golongan mikroorganisme adalah bakteri, archaea, fungi, protozoa, alga mikroskopis, dan virus. (Zainal, Selvianti, & Herlinda, 2022)

2.2.2. Pertumbuhan mikroorganisme

Pertumbuhan pada mikroba diartikan sebagai pertambahan jumlah sel mikroba. Ada dua macam tipe pertumbuhan yaitu pembeahan inti yang diikuti pembelahan sel. Interval waktu yang dibutuhkan bagi sel untuk membelah diri menjadi dua kali lipat disebut juga sebagai waktu generasi yang mana sangat bergantung pada cukup atau tidaknya nutrisi di dalam media pertumbuhan serta kondisi fisik pertumbuhan mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh beberapa faktor yang dibedakan menjadi dua faktor yaitu faktor fisik dan kimia termasuk nutrisi dalam media kultur meliputi temperatur, pH, tekanan osmotik, dan cahaya sedangkan faktor kimia meliputi nutrisi dan media pembiakan. (Zainal, Selvianti, & Herlinda, 2022)

2.3. Bakteri

2.3.1. Definisi

Bakteri adalah mikroba prokariotik uniseluler yang berkembangbiak secara aseksual dengan membelah sel. Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Berhabitat di alam, dalam tanah, atmosfer, dalam lumpur, dan laut. Bentuk dasar bakteri juga beragam yaitu bulat (cocci), batang (bacillus), dan spiral yang dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Bakteri mengalami involusi atau perubahan bentuk yang dapat disebabkan oleh faktor makanan, suhu dan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri (Akbar. & al, 2016)

2.3.2. Pembagian bakteri

Berdasarkan kebutuhan oksigen, bakteri dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu bakteri aerobik yaitu bakteri yang membutuhkan oksigen untuk proses metabolisme atau respirasi selulernya, bakteri anaerobik yaitu bakteri yang tidak membutuhkan kehadiran oksigen untuk pertumbuhannya atau mungkin akan mati apabila ada oksigen, bakteri anaerobik fakultatif yaitu bakteri yang membuat energi ATP melalui respirasi aerobik jika ada oksigen dilingkungannya tetapi bisa berganti respirasi anaerobik atau fermentasi jika tidak ada oksigen, dan bakteri micro-aerophilic yaitu bakteri yang membutuhkan kehadiran oksigen untuk bertahan hidup tetapi konsentrasi oksigen harus lebih rendah dari oksigen atmosfer. (Mawarno, 2018)

Sedangkan berdasarkan suhu bakteri dibedakan menjadi 5 kelompok yaitu bakteri psikrofil yang hidup pada kisaran suhu 0-20 C, bakteri psikotrop dapat tumbuh pada suhu 0-35 C, bakteri mesofil yang dapat tumbuh pada suhu 20-45 C, bakteri termofil yang tumbuh pada suhu 45-65 C, bakteri hipertermofil yang hidup pada suhu diatas 90 C dan maksimal pada suhu 100 C. (Black, 2008)

Bakteri mesofil adalah jenis bakteri yang pertumbuhan optimalnya berada pada suhu yang sedang, oleh karena itu sebagian besar patogen yang menyerang manusia itu adalah bakteri mesophile karena suhu tubuh manusia yaitu sekitar 37 C (Mawarno, 2018)

2.4. *Salmonella sp.*

2.4.1. Definisi

Salmonella sp. adalah salah satu spesies bakteri yang termasuk dalam anggota family *Enterobacteriaceae*, merupakan bakteri aerob fakultatif yang mempunyai sifat gram negatif, berbentuk batang dan mempunyai flagel peritirik untuk bergerak, motil, tidak berspora, berkembang biak dengan cara membelah diri dan memiliki ukuran 1-3,5 mikrometer x 0,5-0,8 mikrometer dan termasuk bakteri mesophile (Mawarno, 2018). Bakteri *Salmonella* dapat memfermentasi glukosa, tetapi

tidak memfermentasikan laktosa atau sukrosa. Hampir semua serotipe membentuk gas bila memfermentasi gula kecuali *Salmonella typhi* (Yuswati, 2017)

Salmonella sp. tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, pada suhu 15-41 C (tumbuh optimal pada suhu 37C), dan pH pertumbuhan 6-8. Pada umumnya isolat mikroorganisme *Salmonella sp.* dikenal dengan sifat dan gerak positif terhadap manitol, sorbitol, dan memberikan hasil negatif pada reaksi indol, DNase, fenilamin, deaminase, urease, Voges-Proskauer, reaksi fermentasi terhadap sucrose, lactose, adonitol, dan tidak tumbuh dalam larutan KCN. Pada agar SS, Endo, EMB, dan MacConvey koloni mikroorganisme berbentuk bulat, kecil, dan tidak berwarna. Sedangkan pada agar Wilson-Blair mikroorganisme berwarna hitam (Yuswati, 2017)

2.4.2. Taksonomi *Salmonella sp.*



Gambar 2. 2 Bakteri *Salmonella sp.* (Yuswanti, 2017)

2.1.1. Patogenitas

Salmonella sering bersifat patogen untuk manusia atau hewan bila masuk melalui mulut. *Salmonella* menyerang saluran gastrointestinal yaitu perut, usus halus dan usus besar yang menyebabkan enteriditis, infeksi sitonik, dan demam enterik. Spesies *Salmonella sp.* yang dapat menyebabkan infeksi makanan didalamnya adalah *Salmonella sp.*, *Enteriditis var, Thyphimurium*, dan varitas-varitas lain serta *Salmonella choleraesuis*. (Brooks, 1996)

Kingdom : Bacteria
Divisi : Protobacteria
Kelas : Gammaproteobacteria
Ordo : Enterobacteria
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Salmonella*
Spesies : *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhi*,
Salmonella paratyphi A, *Salmonella*
thymurium, *Salmonella enteritidis*

Salmonella sering ditemukan dalam bahan makanan asal hewan terutama daging, daging unggas, dan telur yang belum/masih setengah masak. *Salmonella* dapat berasal dari ekskreta manusia maupun hewan dan air yang terkontaminasi oleh limbah. *Salmonella sp.* sangat infeksiif bagi manusia yang bertransmisi melalui fecal-oral dan ditularkan kepada manusia dengan cara mengonsumsi makanan dan air yang tercemar oleh bakteri tersebut. Penyakit menular yang disebabkan oleh *Salmonella sp.* disebut dengan Salmonellosis dengan ditandai adanya gejala seperti diare, mual muntah, nyeri abdomen dan demam yang timbul secara akut. (Mishra, 2012)

2.2. Uji Mikrobiologi *Salmonella sp.*

Uji mikrobiologi adalah salah satu uji yang penting karena selain dapat menduga daya tahan simpan suatu makanan juga dapat digunakan sebagai indikator sanitasi atau indikator keamanan makanan, ada beberapa macam uji mikroba yang digunakan diantaranya adalah uji kuantitatif, uji kualitatif dan uji bakteri indikator. Pengujian yang dilakukan pada setiap bahan pangan tidak sama, tetapi tergantung dari berbagai faktor diantaranya adalah cara penanganan dan konsumsinya, cara penyimpanan, jenis dan komposisi serta faktor-faktor lainnya (Fardiaz, 1993). Menurut SNI 2897-2008 Pengujian *Salmonella sp.* memiliki prinsip pertumbuhan *Salmonella*

pada media selektif dengan pra-pengkayaan, pengkayaan yang dilanjutkan dengan uji biokimia dan uji serologi.

Tahap pra-pengkayaan merupakan tahapan awal yang penting untuk dilakukan. Tujuan dari pra-pengkayaan adalah untuk memperbanyak serta memperbaiki sel *Salmonella sp.* yang mungkin rusak dan membantu mengurangi tingkat kematian sel *Salmonella sp.* akibat pemanasan, pendinginan, pengeringan dan tekanan osmotik selama proses penanganan sampel. (Aulia, Handayani, & Yennie, 2015). Berdasarkan SNI 2008 pra-pengkayaan menggunakan larutan *Lactose Broth*. Media ini sering digunakan pada tahap pra-pengkayaan untuk bakteri koliform atau bakteri family *Enterobacteriaceae*

Lalu tahap selanjutnya tahap pengkayaan yaitu tahap memperbanyak jumlah bakteri yang akan diuji, dan menghambat pertumbuhan bakteri yang lain. Pada tahap ini dapat digunakan untuk melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri tetapi tidak dapat menentukan jenis bakteri yang tumbuh. Untuk mengenal karakteristik yang dimiliki oleh salah satu jenis bakteri dilakukan isolasi pada media selektif seperti *Salmonella-Shigella Agar* yang mampu mendukung pertumbuhan *Salmonella* dan *Shigella*. (Virgiana & Luciana, 2017)

2.2.1. Media Kultur

Media kultur adalah nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme di laboratorium. Berdasarkan konsistensinya media kultur dikelompokkan menjadi tiga macam yaitu media cair (*liquid media*), media padat (*solid media*) dan semisolid. Sedangkan menurut kandungan nutrisinya, media kultur dibedakan menjadi beberapa macam yaitu defined media, media kompleks, media penyubur (*enrichment media*), media selektif, dan media differensial. (Zainal, Selvianti, & Herlinda, 2022). Adapun fungsi media adalah untuk isolasi, untuk memperbanyak jumlah bakteri, untuk pengujian, dan untuk perhitungan. (James G. Cappuccino & Welsh, 2019)

Komposisi nutrisi media yang komplit mengandung sumber karbon (CO₂, CH₄, atau gula), nitrogen (NH₃/pepton/amino), belerang, fosfat, logam mikro, vitamin, penyubur, NaCL dan air. Ditinjau dari sudut keperluan/penggunaan dan sifat-sifatnya, berdasarkan sumber nutrisinya, bentuk fisik komposisi kimia, perbedaan pertumbuhan bakterinya, dapat atau tidaknya menyeleksi/menghambat bakteri yang tidak diinginkan. (Fatiqin, Novita, & Apriani, 2019).

2.2.1.1. *Salmonella Shigella Agar (SSA)*

Media SSA merupakan medium selektif dan diferensial yang digunakan untuk mengisolasi *Salmonella* dan *Shigella*. SSA terdiri atas laktosa, pepton, ox bile dried, ammonium besi (III) sitrat, beef extract, soidum tiosulfat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain sehingga dapat dinyatakan bahwa media ini selektif untuk *Salmonella* dan *Shigella*. Media ini juga mengandung bile salt, brilliant green, dan sodium citrate yang cukup selektif menghambat bakteri gram positif. (Ariandini, 2019)

Bakteri dari genus *Salmonella* menggunakan sodium tiosulfat sebagai sumber sulfur sehingga dapat menghasilkan H₂S akan bereaksi dengan besi sitat sehingga menghasilkan ferous sulfida yang menyebabkan pembentukan koloni berwarna hitam gelap serta menimbulkan bau yang tidak sedap. *Salmonella* menggunakan pepton untuk sumber energinya dengan hasil samping dari proses metabolisme bakteri ini adalah amonia. Amonia dapat menaikkan pH pada media SSA, oleh karena itu media SSA yang sebelumnya berwarna kemerahan dapat menjadi warna kuning. Pada bakteri *Shigella* tidak memfermentasikan laktosa dan tidak menghasilkan H₂S dan juga tosulfat reduktase sehingga koloni yang tumbuh berwarna putih atau tidak berwarna (bening) (F.Aini, 2019).

2.2.1.2. *Trypticase Soy Broth (TSB)*

Tryptic Soy Broth adalah media pengayaan cair yang digunakan dalam prosedur kualitatif untuk uji sterilitas dan untuk pengayaan serta budidaya mikroorganisme aerobik. Dalam mikrobiologi klinis, media ini

dapat digunakan untuk suspensi, pengayaan dan budidaya strain yang diisolasi pada media. Dalam TSB pencernaan enzimatis kasein dan kedelai menghasilkan asam amino dan zat nitrogen kompleks lainnya. Glukosa menjadi sumber energi, natrium klorida menjaga keseimbangan osmotik dan kalium fosfat dibasa bertindak sebagai buffer untuk mengontrol pH. (BD, 2019)

2.2.1.3. *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) merupakan media diferensial dengan indikator yang dapat membedakan mikroorganisme berdasarkan kemampuan dalam memecah karbohidrat spesifik dengan atau tanpa menghasilkan gas. Pada TSIA terdapat karbohidrat (berupa glukosa, sukrosa, dan laktosa), fenol merah sebagai indikator pH, serta natrium tiosulfat. Berdasarkan hal tersebut bakteri dapat digolongkan sebagai mikroba non fermenter, fermenter glukosa, atau fermenter glukosa dan laktosa. (Haryani, Chainulfiffah, & Rustiana, 2012)

Media TSIA merupakan salah satu media yang selalu digunakan karena kemampuannya dalam membedakan golongan enterobacteriaceae yang mampu memfermentasikan karbohidrat jenis tertentu. Dimana terdapat dua reaksi yang terjadi dalam tabung yang sama, yaitu fenol berubah menjadi kuning dibagian dasar ketika glukosa yang ada pada TSIA difermentasi dan apabila fermentasi glukosa tidak terjadi maka dasar akan tetap berwarna merah. Jika sukrosa atau laktosa yang difermentasi maka bagian miring pada agar berubah menjadi kuning juga, dan apabila tidak ada fermentasi sukrosa dan laktosa maka warna akan tetap merah. (Chester & Cooper, 2018)

2.2.1.4. *Lactose Broth* (LB)

Lactose Broth digunakan sebagai media untuk mendeteksi adanya Coliform dalam air, makanan, dan produk susu, juga sebagai kaldu pemerkaya untuk *Salmonella* dan dalam mempelajari fermentasi laktosa oleh bakteri pada umumnya. *Lactose Broth* dibuat dengan komposisi 0,3% ekstrak beef, 0,5% pepton, dan 0,5% laktosa pepton dan ekstrak beef.

Pepton dan ekstrak beef menyediakan nutrisi esensial untuk metabolisme bakteri. *Lactose Broth* sering digunakan pada tahap ini untuk bakteri koliform atau bakteri family *Enterobacteriaceae* (Theofanny, Gunam, & Suwariani, 2021)

2.2.1.5. Media Biokimia

Uji biokimia adalah pengujian larutan atau zat kimia dari bahan kimia yang dapat mendeteksi interaksi bakteri dengan uji reagen yang dapat menghasilkan perubahan warna pada media. Jenis media yang sering digunakan pada uji tersebut adalah media IMViC yang terdiri dari media Indol, MRVP, dan *Simmon Citrate Agar*, serta media TSIA. Media ini memiliki tujuan yang berbeda-beda. Diantaranya media SIM untuk melihat adanya sulfur dengan mengamati adanya endapan, uji indol untuk menentukan kemampuan bakteri memecah asam amino triptofan dengan penambahan reagen Kovacs (Juariah & Yanti, 2016). Media MRVP yang digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan metilenglikol (uji MR) dan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam membentuk asetil metil karbinol (asetoin) dari hasil fermentasi glukosa, setelah diinkubasi ditambahkan alpha naphthol 5% dan KOH 40% (Uji VP) (Ulfa, Suarsini, & Al Muhdhar, 2016). Media SCA untuk melihat kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. (Juariah & Yanti, 2016). Dan media TSIA dapat digunakan untuk uji gula-gula yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan gula yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa, serta produksi H₂S dan gas. (Suarjana, Besung, Mahatmi, & Tono, 2017)

2.2.2. Produk Bakteri

Sifat pertumbuhan bakteri ditandai dengan terbentuknya kekeruhan, endapan, timbulnya gas dan terjadinya perubahan warna pada media. (Suarjana, Besung, Mahatmi, & Tono, 2017)

2.2.2.1. Kekeruhan dan Gas

Pertumbuhan bakteri pada media ditandai dengan terbentuknya kekeruhan dan gas karena bakteri memfermentasikan laktosa menjadi asam

laktat. Kekeruhan disebabkan karena meningkatnya asam sehingga komponen laktosa menggumpal dan menghasilkan kekeruhan. Sedangkan gas berasal dari hasil fermentasi laktosa membentuk gas karbondioksida. Ada beberapa kekeruhan yaitu kekeruhan yang halus merata, pertumbuhan flokulen, pelikel (bantalan tebal pada permukaan), dan terjadinya endapan. (Kamaliah, 2017).

2.2.2.2. Perubahan warna

2.2.2.2.1. Perubahan warna pada media SSA

Perubahan warna pada media SSA disebabkan karena bakteri dari genus *Salmonella* menggunakan sodium tiosulfat sebagai sumber sulfur sehingga dapat menghasilkan H₂S akan bereaksi dengan besi sitat sehingga menghasilkan ferrous sulfida yang menyebabkan pembentukan koloni berwarna hitam gelap serta menimbulkan bau yang tidak sedap. *Salmonella* menggunakan pepton untuk sumber energinya dengan hasil samping dari proses metabolisme bakteri ini adalah amonia. Amonia dapat menaikkan pH pada media SSA, oleh karena itu media SSA yang sebelumnya berwarna kemerahan dapat menjadi warna kuning. Pada bakteri *Shigella* tidak memfermentasikan laktosa dan tidak menghasilkan H₂S dan juga tiosulfat reduktase sehingga koloni yang tumbuh berwarna putih atau tidak berwarna (bening) (F.Aini, 2019).

2.2.2.2.2. Perubahan warna pada media IMViC

Perubahan warna pada media Indol dipengaruhi oleh bakteri yang mengandung enzim triptofanase yang merupakan katalis pengurai gugus indol yang terkandung dalam asam amino triptofan. Pada uji MR perubahan warna disebabkan karena penambahan indikator *Methyl Red* yang menunjukkan perubahan pH pada media biakan yang akan berubah pada kondisi asam dan berwarna kuning pada kondisi basa. Pada uji VP perubahan warna disebabkan karena bakteri membentuk asetoin, Dan pada media Simmons Citrate Agar perubahan warna disebabkan karena penggunaan sitrat oleh bakteri yang menyebabkan asam menghilang dari

biakan sehingga terjadi peningkatan pH dan mengubah warna media dari hijau menjadi biru (Ulfa, Suarsini, & Al Muhdhar, 2016)

2.2.2.2.3. Perubahan warna pada media TSIA

Perubahan warna pada media TSIA terjadi berdasarkan kemampuan *Salmonella sp* menghasilkan H₂S dan ketidak mampuan *Salmonella sp* memfermentasikan karbohidrat tertentu, misalnya laktosa dan sukrosa. Fermentasi laktosa dan sukrosa sejumlah besar terjadi pada bagian slant (agar miring) dan fermentasi glukosa terjadi pada bagian dasar agar sehingga terjadi perubahan warna menjadi kuning. (Yuswananda, 2015)

2.2.3. Uji Biokimia

Uji biokimia adalah pengujian larutan atau zat-zat kimia dari bahan kimia yang dapat mendeteksi interaksi bakteri dengan uji reagen yang dapat menghasilkan perubahan warna pada media (Juariah & Yanti, 2016). Uji biokimia dilakukan untuk melihat karakteristik bakteri melalui reaksi biokimia yang biasanya dilakukan yaitu uji TSIA, Indol, MR-VP, dan sitrat. Pentingnya uji biokimia ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme secara fisiologis berdasarkan reaksi biokimia. Uji biokimia ini dilakukan untuk menguatkan dugaan bahwa bakteri yang di isolasi merupakan *Salmonella sp*. (Apriyanthi, W, & Widayanti, 2022)

2.2.3.1. Uji Indol

Prinsip uji indol yaitu triptofan adalah asam amino esensial yang dapat mengalami oksidasi melalui aktivitas enzimatis dari beberapa bakteri. (James G. Cappuccino & Welsh, 2019). Uji indol dilakukan dengan menginokulasi isolat ke dalam tabung yang terisi 10 ml media SIM dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah di inkubasi selama 24 jam, reagen Kovac diteteskan perlahan pada dinding tabung hingga terlihat garis pemisah antara media dan reagen. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna merah pada garis pemisah, sedangkan yang tidak terbentuk cincin merah menandakan hasil negatif. Hasil positif pada uji indol menunjukkan bahwa bakteri mengandung enzim triptofanase yang merupakan katalis pengurai gugus indol yang terkandung dalam asam amino triptofan. (Ulfa, Suarsini,

& Al Muhdhar, 2016). Umumnya hasil spesifik uji indol pada *Salmonella* adalah negatif.

2.2.3.2. Uji *Methyl-Red* (MR)

Prinsip uji *methyl red* adalah indikator methyl red mendeteksi adanya konsentrasi besar produk akhir asam (James G. Cappuccino & Welsh, 2019). Uji *Methyl Red* digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan metilenglikol. (Ulfa, Suarsini, & Al Muhdhar, 2016). Uji MR dilakukan dengan menginokulasi isolat pada tabung yang berisi 10 ml media MR-VP dan diinkubasikan selama 48 jam. Lalu ditambahkan 5 tetes indikator *Methyl Red* pada tabung. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna media menjadi merah, sedangkan hasil uji negatif ditandai dengan warna kuning pada media. Uji MR umumnya memberikan hasil positif terhadap *Salmonella* sp. (Puspitawati, 2018).

2.2.3.3. Uji *Voges-Proskauer* (VP)

Prinsip uji voges-proskauer adalah menentukan kemampuan untuk menghasilkan produk akhir yang tidak asam/netral seperti asetilmetilkarbonat dari asam organik yang dihasilkan dari metabolisme glukosa (James G. Cappuccino & Welsh, 2019). Uji VP digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam membentuk asetil metil karbinol (asetoin) dari hasil fermentasi glukosa, setelah diinkubasi ditambahkan alpha naphthol 5% dan KOH 40%. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna media menjadi merah yang menunjukkan bahwa bakteri membentuk asetoin, sedangkan apabila tidak terjadi perubahan warna menjadi merah maka hasil yang ditunjukkan adalah negatif. (Ulfa, Suarsini, & Al Muhdhar, 2016). Pada umumnya hasil spesifik *Salmonella* pada uji VP adalah negatif.

2.2.3.4. Uji Sitrat

Prinsip uji sitrat adalah melihat kemampuan bakteri untuk memfermentasi sitrat sebagai sumber energi sebab tidak adanya glukosa atau laktosa yang bergantung pada adanya citrate-permease yang memfasilitasi transportasi sitrat dalam sel (James G. Cappuccino & Welsh,

2019). Uji sitrat dilakukan dengan menginokulasi isolat pada media *Simmons Citrate Agar*. Uji sitrat dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Hasil positif akan ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru yang disebabkan oleh penggunaan sitrat oleh bakteri yang menyebabkan asam menghilang dari biakan sehingga terjadi peningkatan pH dan mengubah warna media dari hijau menjadi biru, sedangkan untuk yang tidak terjadi perubahan warna menunjukkan hasil negatif. (Ulfa, Suarsini, & Al Muhdhar, 2016). Pada umumnya hasil spesifik *Salmonella* pada uji sitrat adalah positif.

2.2.3.5. Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Prinsip uji TSIA adalah membedakan kelompok enterobacteriaceae yang mana semua merupakan bakteri gram negatif yang dapat memfermentasikan glukosa dengan menghasilkan asam, perbedaan dapat dilihat dengan perbedaan pada fermentasi karbohidrat dan hasil H₂S (James G. Cappuccino & Welsh, 2019). Uji TSIA digunakan untuk bakteri gram negatif yang memfermentasi glukosa, laktosa, atau sukrosa dan membentuk H₂S. Media TSIA mengandung pHenol red sebagai indikator keasaman dan ferrous sulfate yang berfungsi sebagai pembentuk H₂S. Pada uji TSIA warna kuning menandakan asam dan warna merah menandakan basa, serta jika ada warna hitam menandakan terbentuknya reaksi H₂S. Koloni dari media SSA diambil kemudian diinokulasikan ke media TSIA dengan menusukkan ke dasar agar lalu digoreskan ke agar miring dan diinkubasi pada temperatur 37 °C selama 24 jam. Menurut SNI 2897 tahun 2008 Umumnya *Salmonella* sp menghasilkan warna merah pada agar miring dan warna kuning pada dasar agar, terdapat H₂S, dan bisa terdapat gas atau tidak

2.2.4. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram merupakan pewarnaan yang sangat umum dalam bidang bakteriologi. Dalam pewarnaan ini, kelompok bakteri dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu kelompok gram negatif dan kelompok gram positif. Kelompok bakteri gram positif adalah bakteri yang setelah diwarnai dengan pewarna dasar warnanya tidak terhapus oleh alkohol dan warnanya

menjadi violet karena terwarnai oleh kristal violet, dan tidak lagi menyerap warna kontras. Sedangkan untuk kelompok bakteri gram negatif adalah bakteri yang telah diwarnai dengan pewarna dasar warnanya terhapus oleh alkohol dan akan menyerap pewarna safranin atau karbol fushin yang dipakai sebagai pewarna kontras sehingga dalam kaca preparat akan terlihat warna merah. Perbedaan sifat gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel yang mana kandungan peptidoglikan pada bakteri gram positif lebih tebal dibanding dengan kandungan peptidoglikan pada bakteri gram negatif (Apriyanthi, W., & Widayanti, 2022).