

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*)

Ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) adalah ikan yang asli berasal dari Indonesia, tepatnya berasal dari perairan daerah Sunda kemudian menyebar hingga ke perairan Malaysia, Thailand, Ceylon, hingga sampai ke Australia. Ikan gurami adalah salah satu ikan herbivora dan ikan endemik di Asia Tenggara, khususnya Indonesia. Ikan gurami merupakan salah satu ikan air tawar yang banyak diminati masyarakat dan ikan ini memiliki nilai ekonomis tinggi dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya (Azrita & Syandri, 2015).

Sebagai ikan konsumsi, ikan gurami lebih digemari karena memiliki tekstur daging yang kompak dan padat serta gurih dan berduri besar. Sebagai ikan hias karena ikan gurami memiliki sisik yang berwarna warni. Ketertarikan bagi para petani pembudidaya untuk membudidayakan ikan gurami karena tidak membutuhkan perawatan yang intensif, hanya dengan memastikan dalam kolam perawatan selalu tersedia air dengan jumlah cukup besar (Sani, 2014). Menurut Bachtiar (2010), klasifikasi ikan gurame yaitu : Kingdom *Animalia*, Filum *Chordata*, Subfilum *Vertebrata*, Kelas *Pisces*, Subkelas *Teleostei*, Ordo *Labyrinthici*, Subordo *Belontiidae*, Family *Osphronemidae*, Genus *Osphronemus*, Species *Osphronemus gouramy*.



Gambar 2.1 Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*)
(Ghofur, dkk., 2017)

Menurut Sani (2014), ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) memiliki ciri-ciri morfologi yang khas yaitu badan berbentuk pipih, panjang tubuhnya dua kali lebih besar dibandingkan dengan lebarnya, memiliki sirip lengkap dengan modifikasi pada sirip perutnya sehingga berbentuk seperti benang. Sirip punggung memiliki 12-13 jari-jari keras dan 11-13 jari-jari lunak, sirip anal dengan 9-11 jari-jari keras dan 9-21 jari-jari lunak, sirip dada terdiri atas dua jari-jari keras dan 13-14 jari-jari lunak, memiliki gurat sisi sempurna dengan 30-33 keping sisik dari kepala hingga ekor. Perut ikan gurami akan berwarna keperakan, sedangkan pada bagian punggungnya akan berwarna sawo matang. Saat masih muda, dahi masih rata dan akan mulai terbentuk ketika ikan gurami menginjak umur dewasa dan siap untuk memijah (Sutanto, 2014).

Ciri lainnya adalah mulut dan gigi yang kecil, agak miring, dan tidak tepat di bawah bibir. Memiliki alat peraba yaitu sepasang benang yang Panjang terletak di bagian bawah tubuhnya. Jika dilihat secara langsung, secara fisik ikan gurami dewasa jelas berbeda dengan ikan gurami muda yaitu dari perbedaan segi ukuran tubuh, warna, bentuk kepala serta dahi. Sedangkan jika dilihat dari segi warna,

gurami muda lebih menarik jika dibandingkan dengan gurami dewasa. Ikan gurami termasuk bangsa ikan Labyrinthici, yaitu bangsa ikan yang memiliki alat pernapasan tambahan (labirin) berupa selaput tambahan berbentuk tonjolan pada tepi atas lapisan insang pertama, sehingga dapat mengambil oksigen langsung dari udara (Marilyn, 2015).

Budidaya ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) di tingkat petani dibudayakan dari yang jumlahnya sedikit sampai banyak, dan umumnya pada kolam ukuran kecil tapi dengan kepadatan yang tinggi. Kepadatan yang tinggi dapat memicu terjadinya stress pada ikan dan rentan terhadap penyakit (Hardaningsih, *et al.*, 2012). Pengelolaan kualitas air untuk ikan gurami lebih mudah dilakukan. Air untuk ikan gurami tidak harus mengalir deras. Suhu optimal habitat hidup ikan gurami berkisar 25-30°C. Sementara itu, derajat keasaman (pH) perairan berkisar tujuh sampai delapan. Perubahan pH secara mendadak akan menyebabkan ikan meloncat-loncat atau berenang sangat cepat dan tampak seperti kekurangan oksigen hingga mati mendadak. Sementara perubahan pH secara perlahan akan menyebabkan lendir keluar berlebihan, kulit menjadi keputihan dan mudah terkena bakteri. Hasil penelitian Verawati, *et al.*, (2017) menyatakan nilai pH cenderung mengalami penurunan yang disebabkan terjadinya peningkatan buangan hasil metabolisme pada ikan gurami.

Pakan merupakan salah satu aspek penting yang harus diperhatikan dalam budidaya ikan gurami. Pakan merupakan sumber energi untuk menunjang pertumbuhan dan sintasan ikan (Virnanto, *et al.*, 2016). Pakan harus tersedia dalam jumlah yang cukup, diberikan pada waktu yang tepat, dan mempunyai

kandungan gizi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan ikan (Juliana, 2018). Salah satu kendala dalam budidaya ikan gurami adalah menurunnya jumlah produksi yang disebabkan oleh penyakit (Setiawan, *et al.*, 2012).

Ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) merupakan ikan air tawar yang bernilai ekonomis tinggi dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya (Ahmad, *et al.*, 2017 & Mareta, *et al.*, 2018). Selain dari nilai ekonomi yang menjanjikan, ikan gurami memiliki sifat yang menguntungkan sebagai pemakan tanaman (herbivora) karena biaya pemeliharaannya relatif rendah. Kelebihan ikan gurami dibandingkan ikan air tawar lainnya yaitu memiliki tekstur daging yang tebal, rasa dagingnya yang gurih serta duri dan tulang yang sedikit dan mampu hidup pada kadar oksigen yang rendah (Hardaningsih, *et al.*, 2012). Kelebihan lain dari ikan gurami adalah dapat hidup pada lingkungan perairan berkadar oksigen rendah dengan adanya alat pernafasan tambahan (Nugroho, 2012).

Ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) pada umumnya memiliki kadar protein yang tinggi dan umumnya protein dari hewan mempunyai nilai biologis yang tinggi oleh karena itu digolongkan sebagai protein lengkap. Ikan jenis ini memiliki kandungan protein yang tinggi, yakni sekitar 19-20% (Ahmad, 2017).

Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi Ikan Gurami (Sani, 2014)

Jenis Nutrisi	Jumlah
Protein	18,93%
Lemak	2,43%
Vitamin A	749,715 IUI100g
Vitamin B1	0,0792 mg/100g
Vitamin B2	0,083 mg/100g
Vitamin B3	1,22 mg/100g

2.1.1 Insang Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*)

Proses pernapasan ikan melalui 2 tahap, yaitu tahap inspirasi dan ekspirasi. Fase Inspirasi dengan membuka mulut, sehingga terdapat sedikit tekanan negatif dalam rongga mulut maupun rongga insang. Pada saat air masuk ke dalam insang melalui mulut, oksigen (O_2) diikat oleh kapiler darah untuk dibawa ke jaringan-jaringan yang membutuhkan, sedangkan fase ekspirasi adalah fase pengeluaran air. Setelah air masuk ke rongga mulut, celah mulut menutup, operkulum membuka, tekanan yang lebih besar di dalam rongga mulut menyebabkan air keluar melewati celah operkulum, melalui celah ini air akan menyentuh lembaran-lembaran insang sehingga terjadi pertukaran gas (Putra, 2014). Secara anatomi insang ikan gurami terletak di kepala bagian bawah dan berwarna merah, serta terdiri atas empat filamen pada setiap sisi. Satu filamen insang terdiri atas rigi-rigi insang (*gill rakers*), lengkung insang (*arcus branchialis*), dan sepasang lamela (Solikhah, 2015).

Insang merupakan organ yang sangat berperan penting dalam proses respirasi pada ikan. Sama halnya dengan fungsi paru-paru pada hewan mamalia. Insang berfungsi untuk proses pertukaran antara O_2 (oksigen) dengan CO_2 (karbondioksida). Oksigen yang terlarut dalam air akan diabsorpsi oleh kapiler-kapiler darah pada insang dan terjadi proses difusi, dan karbondioksida akan dilepaskan ke air melalui insang (Pertiwi, *et al.*, 2017). Ikan Gurami sering kelihatan menyembulkan mulutnya yang menonjol dipermukaan air. Gerakannya itu berusaha untuk mengambil oksigen dari udara bebas dilepaskan ke air di sekitar insang (Veronica, 2017). Oksigen yang terisap akan diikat oleh labirin.

Labirin adalah alat pernafasan tambahan pada ikan berupa lipatan labirin. Alat tambahan ini merupakan turunan dari lembar insang pertama. Labirin terletak pada suatu rongga di belakang atau di atas insang. Udara ditampung dirongga labirin saat akan muncul dipermukaan air. Labirin berfungsi sebagai organ respirasi dan filamen berfungsi sebagai organ sensori (Yuda, 2013).

Terdapat sangat banyak kapiler–kapiler darah di insang ikan, dimana darah merupakan sumber yang kaya akan nutrisi dan sangat cocok untuk perkembangbiakan mikroorganisme seperti parasit, bakteri, virus dan jamur (Priosoeryanto, *et al.*, 2010). Menurut Hardianty (2016), insang merupakan organ respirasi pada ikan yang langsung berhubungan dengan air. Air yang mengandung polutan dapat mengakibatkan kerusakan pada sistem pernafasan ikan, terutama insang dan labirin. Insang juga berfungsi sebagai pengatur pertukaran garam dan air, serta pengeluaran limbah-limbah yang mengandung nitrogen. Insang terletak di luar dan berhubungan langsung dengan air sebagai media hidup ikan. Lingkungan air yang tercemar karena pencemar yang terlarut, maupun yang tersuspensi dapat berpengaruh pada insang. Oleh sebab itu, apapun perubahan-perubahan yang terjadi di lingkungan perairan akan secara langsung dan tidak langsung berdampak kepada struktur dan fungsi insang.

2.2 Bakteri *Salmonella sp.*

Bakteri *Salmonella sp.* pertama kali ditemukan tahun 1885 pada tubuh babi oleh Theobald Smith (yang terkenal akan hasilnya pada anafilaksis), namun *Salmonella sp.* dinamai dari Daniel Edward Salmon, ahli patologi Amerika (Masita, 2015). Badan Kesehatan Dunia (WHO, 2014), menyatakan bahwa

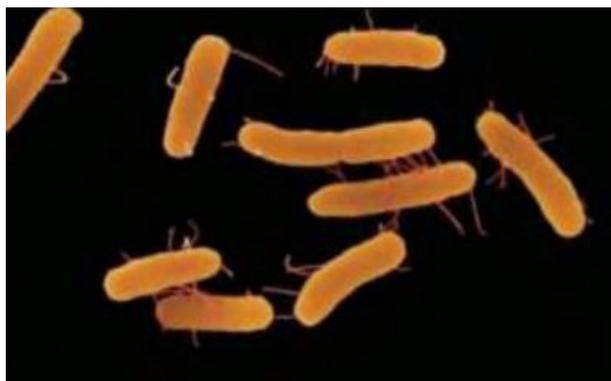
Salmonella sp. adalah genus bakteri yang merupakan penyebab utama penyakit bawaan makanan di seluruh dunia. Sampai saat ini masih terbatasnya studi di laboratorium, dan kurangnya penyelidikan Salmonellosis di negara berkembang membuat resiko penyakit akibat infeksi *Salmonella* ini semakin besar.

Taksonomi dari bakteri *Salmonella sp.* adalah sebagai berikut: Kingdom *Bacteria*, Filum *Proteobacteria*, Kelas *Gamma proteobacteria*, Ordo *Enterobacteriales*, Family *Enterobacteriaceae*, Genus *Salmonella*, Spesies *Salmonella sp.* Genus *Salmonella sp.* dan spesies lebih dari 2000 serovar. Serovar yang dapat ditemukan di Asia Tenggara dan India antar lain adalah : *S. aberdeen*, *S. Agona*, *S. Albany*, *S.anatum*, *S. Arizonae*, *S. Bradvord*, *S. Brunei*, *S. Drypool*, *S. Enteritidis*, *S. Havana*, *S. Javiana*, *S. Paratyphy B*, *S. Paratyphi B java*, *S.typhi*, *S. Typhymurium*, *S. Weltevreden*, *S. Worthington* dan terdapat lebih dari 70 jenis lainnya (Olgunoglu, 2012).

Secara epidemiologis *Salmonella sp.* dapat dibedakan menjadi tiga bagian, yaitu : (1) *Salmonella sp.* yang hanya menginfeksi manusia, diantaranya *Salmonella thyphi*, *Salmonella parathyphi*. (2) Serovar *Salmonella sp.* yang beradaptasi dengan host (beberapa patogen untuk manusia dan mungkin disebarkan dari makanan) diantaranya *Salmonella gallinarum* (ayam), *Salmonella dublin* (sapi), *Salmonella abortus-equi* (kuda), *Salmonella abortusovis* (domba), dan *Salmonella cholerasuis* (babi). (3) Serovar *Salmonella sp.* yang belum beradaptasi (tidak membutuhkan host) (Muzadin, 2018).

2.2.1 Morfologi

Bakteri *Salmonella sp.* merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, fakultatif anaerobik, tidak membentuk spora, bersifat motil karena memiliki flagela peritrikus (Nisa, 2018). Panjang *Salmonella sp.* bervariasi, sebagian besar isolate motil dengan flagel peritrika (Andari, 2022). *Salmonella sp.* merupakan bakteri batang lurus dan bergerak dengan flagel peritrik kecuali *Salmonella pullorum* dan *Salmonella gallinarum*. Panjang rata-rata *Salmonella sp.* 2-5 μm dengan lebar 0.8 – 1.5 μm (Masita, 2015). Bakteri *Salmonella sp.* mempunyai ciri-ciri umum sebagai berikut: berbentuk batang atau silindris, ukurannya tergantung dari jenis bakteri (umumnya mempunyai panjang $\pm 2 \mu\text{m}$ —3 μm dan bergaris tengah $\pm 0,3 \mu\text{m}$ -0,6 μm), mempunyai flagella peritrikus di seluruh permukaan selnya (kecuali pada jenis bakteri *Salmonella gallinarum* dan *Salmonella pullorum*), bersifat Gram negatif berkembangbiak dengan cara membelah diri (Putra, 2021).



Gambar 2.2 Bakteri *Salmonella sp.* (Sinaga, 2016)

Menurut Firnanda, *et al.*, (2013), bahwa pada proses pewarnaan Gram menunjukkan koloni bakteri *Salmonella sp.* berwarna merah muda karena lipid yang terdapat pada dinding sel bakteri Gram negatif akan larut setelah dicuci

dengan alkohol sehingga lipid tersebut luruh dan menyebabkan lepasnya zat warna kristal violet serta hanya menyerap zat warna safranin. Bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel yang kompleks, berlapis tiga. Struktur sel bakteri *Salmonella sp.* terdiri atas : lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan yang tipis dan membran luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa yang keluar atau masuk ke dalam sel dan menyebabkan efek toksik) serta dinding luar bakteri bersifat permeabilitas tinggi (Dwicahyani, *et al.*, 2018).

2.2.2 Sifat Biokimia

Sifat bakteri *Salmonella sp.* antara lain: dapat bergerak, tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif, memberikan hasil positif pada reaksi fermentasi manitol dan sorbitol serta memberikan hasil negatif pada reaksi indol, DNase, fenilalanin deaminase, uraease, voges proskauer, dan reaksi fermentasi sukrosa dan laktosa. *Salmonella sp.* umumnya bersifat patogen pada manusia atau hewan bila masuk ke dalam mulut. Bakteri *Salmonella sp.* dapat bertahan dalam waktu yang lama pada bahan makanan yang mengandung lemak. *Salmonella sp.* mudah mati dengan cara pemanasan. *Salmonella sp.* mudah tumbuh pada medium sederhana, tetapi hampir tidak pernah memfermentasi laktosa dan sukrosa. Organisme ini membentuk asam dan kadang kadang gas dari glukosa ke manosa dan menghasilkan H₂S (Andari, 2022).

Bakteri *Salmonella sp.* dapat tumbuh pada suhu dengan kisaran 5–45°C dengan suhu optimum 35–37°C dan akan mati pada pH di bawah 4,1. Bakteri *Salmonella sp.* tidak tahan terhadap kadar garam tinggi dan akan mati jika berada

pada media dengan kadar garam di atas 9%. *Salmonella sp* berbentuk Bacillus dan berupa rantai filamen panjang ketika berada pada suhu ekstrim yaitu 4-8°C atau pada suhu 45°C dengan kondisi pH 4.4 atau 9.4 (Masita, 2015). Menurut Rahmi, *et al.*, (2014), Bakteri *Salmonella sp.* tetap virulen dan dapat bertahan lama diantaranya lebih dari 90 hari di air, 200 hari di tanah, dan 28 bulan pada feses.

Infeksi bakteri *Salmonella sp.* juga disebabkan karena hewan kontak langsung dengan feses kemudian memakannya atau disebut transmisi fekal-oral. Bakteri *Salmonella sp.* memiliki enzim katalase yang dapat memecah dihidrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂. Sifat oksidase negatif *Salmonella sp.* adalah bakteri ini tidak memiliki enzim superoksida dismutase yang mengubah H₂ menjadi peroksida. Sifat lain *Salmonella sp.* adalah dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit, tumbuh cepat pada berbagai macam media, hidup pada pH 4-9 dan beberapa pada pH 3,7 (Suryandari, 2018).

2.2.3 Cara Penularan

Bakteri *Salmonella sp.* sebagian besar ditularkan melalui makanan sebanyak 80,1%, penularan antar manusia 6,3 % dan melalui hewan 4,3 % sedangkan menurut Standar Nasional Indonesia SNI.7388:2009, tentang batas maksimum cemaran mikroba dan batas maksimum residu dalam bahan makanan asal hewan tidak boleh ada bakteri *Salmonella sp.* (SNI 3924:2009) Mutu Karkas Dan Daging (Wibisono, 2022). Makanan dan minuman yang terkontaminasi merupakan transmisi kuman *Salmonella sp.* biasa berada di air, es, sampah kering yang apabila organisme ini masuk pada bagian tubuh yang cocok akan berkembang biak mencapai dosis infeksi (Rizkoh, 2021). Penyebaran *Salmonella sp.* terjadi

karena beberapa faktor, diantaranya adalah faktor lingkungan seperti terbawa dari aliran air hujan yang sudah tercemar *Salmonella sp.*, hasil ekskresi hewan sakit, pakan yang tercemar *Salmonella sp.*, sumber air yang terkontaminasi, proses pengolahan daging ikan yang berasal dari es, air, kontainer, dan cara penanganan yang salah (Poeloengan, *et al.*, 2014).

2.2.4 Bakteri *Salmonella sp.* pada ikan

Bakteri *Salmonella sp.* diisolasi dari ikan dan produk ikan, namun beberapa peneliti mengungkapkan bahwa bagian yang sering ditemukan bakteri *Salmonella sp.* yaitu pada bagian organ dalam, insang, serta kulit. Sebagian besar kasus Salmonellosis pada ikan berawal dari mengkonsumsi daging ikan mentah tanpa diproses terlebih dahulu dan kontaminasi silang selama proses. Bakteri *Salmonella sp.* adalah bakteri kontaminan yang sering ditemukan di dunia adalah *Salmonella weltevreden*. Pada makanan laut paling sering ditemukan *Salmonella worthington* dan diikuti *Salmonella weltevreden*. Ikan yang terkena *Salmonella sp.* kadang menunjukkan gejala klinis septikemia, akan tetapi ikan cenderung tidak menampakkan gejala klinis Salmonellosis (Olgunoglu, 2012).

2.2.5 Gejala Klinis

Daging yang tercemar mikroba akan terjadi perubahan tekstur, berlendir, bau busuk, berjamur dan rasa tidak enak serta menyebabkan gangguan kesehatan bila dikonsumsi berdasarkan besarnya resiko yang disebabkan oleh infeksi *Salmonella sp.* (Ulfiani, 2022). Akibat dari kontaminasi bakteri *Salmonella sp.* dapat menyebabkan *food borne disease*, yang merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri

pathogen, virus, parasite, atau makanan yang tidak direbus selama 10 menit di air mendidih. *Food borne disease* dapat menyebabkan wabah jika tidak dideteksi sejak dini (Andari, 2022). Infeksi bakteri ini pada hewan atau manusia dapat mengakibatkan penyakit dengan gangguan pada bagian saluran pencernaan atau gastroenteritis (Wibisono, 2020). Gejala gastroenteritis pada manusia dengan gejala klinis mual, muntah, kram pada perut, diare, dehidrasi, pusing, dan demam. Bakteri *Salmonella sp.* menyebabkan diare akut dan kronis bahkan kematian (Abd ElGhany, 2020; Anderson, *et al.*, 2016).

Kasus *food borne disease* yang paling banyak dijumpai adalah Salmonellosis. Bakteri *Salmonella sp.* menyebabkan gastroenteritis hingga infeksi sistemik yang biasa dikenal demam *typhoid*. Salmonellosis ditandai dengan sakit kepala secara mendadak, sakit perut, diare, mual, dan muntah disertai demam. Jika terjadi dalam waktu cukup lama, akan menyebabkan dehidrasi yang berbahaya (Aerita, 2014). Kerugian yang terjadi akibat Salmonellosis pada hewan antara lain kematian, penurunan produksi ternak, abortus, kematian neonatal, dan pengafkiran bahan makanan yang tercemar bakteri. Hewan yang bunting dapat menyebabkan abortus dengan gejala atau tanpa menunjukkan tanda-tanda sakit lainnya. Gejala umum Salmonellosis yaitu demam, kurang nafsu makan, lesu, dehidrasi, dan kekurusan. Kematian dapat terjadi tiga sampai empat hari setelah menderita sakit dan dapat sembuh dengan sendirinya setelah beberapa minggu atau bulan. Salmonellosis sub-akut ada yang menunjukkan gejala demam dan ada pula yang tidak. Anak sapi yang terserang sekitar umur dua sampai enam minggu, dengan tanda-tanda septikemia yang akut tanpa diare. Penyakit yang berjalan

kronis dapat terjadi arthritis atau peradangan. Angka morbiditas sampai 80% sedangkan angka mortalitasnya 10-20% atau lebih tinggi (Pudjiatmoko, 2014).

2.2.6 Cara Pencegahan

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengobati penyakit infeksi karena bakteri *Salmonella sp.* yaitu dengan menggunakan antibiotik yang ditujukan untuk mengurangi infeksi dan mencegah terjadinya komplikasi yang serius (Aulia, 2015). Sosialisasi tentang penyakit Salmonellosis untuk menekan kejadian Salmonellosis sebagai upaya pengendalian perlu dilakukan. Pencegahan cemaran bakteri *Salmonella sp.* dapat dilakukan saat pemeliharaan sampai saat pengolahan. Penjual sebaiknya membersihkan peralatan sebelum dan sesudah dipakai, tempat dan lapak yang digunakan untuk berjualan perlu di desinfektan secara rutin menggunakan desinfektan alami yang aman bagi konsumen. Strategi pencegahan yang efektif adalah deteksi kasus, perbaikan sanitasi lingkungan, pencegahan kontaminasi dalam industri makanan, menekan angka reaktor Salmonellosis, pendidikan kesehatan masyarakat serta eliminasi sumber infeksi (Detha & Datta, 2015; Wibisono & Wibisono, 2020).

2.2.7 Patogenesis

Bakteri *Salmonella sp.* terbawa lewat makanan maupun benda yang lain dengan memasuki saluran cerna. Pada bagian gastrointestinal bakteri dimusnahkan oleh asam lambung. Tetapi yang berpenetrasi dapat masuk kedalam usus halus. Bakteri melakukan penetrasi didalam mukosa, usus halus dan usus besar. Hidup secara intraselular yang mana berpoliferasi. Pada saat bakteri mencapai epitel IgA tidak dapat menanganinya, maka terjadi degenerasi enzim

brush border. Sel bakteri akan diikelilingi oleh *inverted cytoplasmic membrane*, sama dengan vakuola fagositik. *Salmonella sp.* akan membelah diri didalam pencernaan penderita, yang akan menyebabkan terjadinya radang usus (enteritis). Radang usus dan penghancuran lamina propia, alat pencernaan oleh poliferasi. *Salmonella sp.* yang menyebabkan diare, karena bakteri memproduksi racun yang dinamakan *cytotoxin* dan *enterotoxin* (Arifin, 2015).

2.3 Uji Total Plate Count (TPC)

Perhitungan bakteri dapat dilakukan dengan perhitungan secara langsung dan secara tidak langsung. Perhitungan secara langsung (*petrof hauser cell counter*) dilakukan dengan menghitung keseluruhan mikroba yang berada di media baik mikroba mati maupun mikroba hidup dengan alat yang bernama *haemocytometer*. Sedangkan perhitungan secara tidak langsung dilakukan dengan berbagai cara. Beberapa cara tersebut yaitu filtrasi, *plate count*, pengukuran berat kering (Romadhon, 2016).

Metode *Total Plate Count* (TPC) merupakan metode untuk menghitung jumlah mikroba yang terdapat pada sampel makanan dan produk hasil pertanian. Jumlah mikroba harus dibatasi pada produk makanan dan hasil pertanian harus mengikuti standar-standar yang sudah ditetapkan. Metode TPC dibedakan atas dua cara, yakni metode tuang (*pour plate*), dan metode permukaan (*surface / spreader plate*). Pada metode tuang, sejumlah sampel (1ml atau 0,1ml) dari pengenceran yang dikehendaki dimasukkan kecawan petri, kemudian ditambah *Nutrient Agar* (NA) yang didinginkan (47-50°C) sebanyak 15-20 ml dan digoyangkan supaya sampelnya menyebar. Penanaman

dengan metode permukaan (*spreader*) terlebih dahulu dibuat, kemudian sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan diambil menggunakan pipet dan ditetesi pada permukaan *Nutrient Agar* (NA) tersebut. Kemudian diratakan dengan batang gelas melengkung yang steril (Wati, 2018).

Prinsip dari metode ini adalah penanaman sel mikroba hidup pada media sehingga mikroba tersebut dapat berkembang biak dan juga dapat membentuk koloni yang dapat dilihat dengan mata telanjang tanpa bantuan mikroskop (Fauzia, 2021). Faktor yang mempengaruhi hasil TPC adalah kualitas air, residu disinfektan, jenis perlakuan, waktu yang digunakan saat pengujian, suhu dan waktu inkubasi (Martoyo, *et al.*, 2014). Menurut Handoko (2012), nilai TPC atau jumlah total mikroba pada bahan pangan mencerminkan konsep higienitas dan sanitasi.

Tabel 2.2 Penggolongan Kelompok Hasil Perhitungan TPC

Jumlah Koloni / Cawan Petri (<i>Colony Form Unit</i>)	Keterangan
30 - 300	Dapat dihitung
< 30	Terlalu sedikit untuk dihitung (TSUD)
> 300	Terlalu banyak untuk dihitung (TBUD)
Tidak membentuk koloni dan > $\frac{1}{4}$ cawan petri	<i>Spreader</i>

Sumber : Harti, 2015

Metode ini memiliki kelebihan, yaitu hanya menghitung sel bakteri yang hidup, tidak termasuk sel bakteri yang mati, dan beberapa mikroba lainnya dapat dihitung sekaligus. Sedangkan kelemahan dari metode ini adalah kumpulan

beberapa sel yang berdekatan dihitung sebagai koloni tunggal, metode ini memerlukan waktu dan bahan yang banyak (Hazan, *et al.*, 2012)

2.4 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Salmonella sp.*

2.4.1 Media *Enrichment*

Penanaman bakteri dalam media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dilakukan pada media pengaya, media yang digunakan adalah media *Tetrathionate broth*, dilakukan dengan suhu 37°C selama 24 jam. Senyawa selektif dalam *Tetrathionate broth* yaitu garam empedu dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Tetrathionat terbentuk di dalam media karena adanya penambahan kalium iodida (I₂KI). Bakteri *Salmonella sp.* dapat tumbuh dalam media *Tetrathionate broth* karena memiliki enzim tetrathionat reduktase (Putri, 2021)

2.4.2 Uji *Salmonella Shigella Agar* (SSA)

Media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) adalah media spesifik yang biasa digunakan untuk mendeteksi kontaminasi bakteri dari genus *Salmonella sp.* Media SSA mengandung *bile salts*, *brilliant green* dan *sodium sitrat* yang berfungsi untuk menghambat Gram positif dan beberapa bakteri yang memfermentasi laktosa (Tille, 2014). Bakteri yang tumbuh pada *Salmonella Shigella Agar* (SSA) akan memperlihatkan koloni yang berbentuk cembung, bulat, bertekstur halus, pinggiran rata, mengkilat, dan memiliki warna *black center*. Pigmen berwarna hitam pada koloni bakteri *Salmonella sp.* diakibatkan oleh kemampuan bakteri dalam memproduksi H₂S. Jika koloni berwarna putih, maka koloni berasal dari bakteri genus *Shigella sp.* Kemampuan metabolisme bakteri merupakan prinsip

dari diferensiasi jenis-jenis bakteri. Bakteri dari genus *Shigella sp.* tidak dapat memfermentasikan laktosa, tidak dapat memproduksi H₂S dan enzim tiosulfat reduktase sehingga koloni yang tumbuh memiliki warna putih atau tidak memiliki warna. Media SSA tidak perlu disterilisasi, karena telah mengandung inhibitor mikroorganisme lain, selain bakteri *Salmonella sp.*, *Shigella*, dan *Escherichia*. (Muktiningsih *et al*, 2016).

2.4.3 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan tujuan untuk melihat morfologi sel *Salmonella sp.* secara mikroskopik dan sifat fisik dan kimia yang khas dari bakteri dengan menggunakan zat warna. Reagen pewarnaan Gram yang digunakan yaitu kristal violet, iodine, etil alkohol, dan safranin. Kristal violet berfungsi sebagai *mordant* yaitu meningkatkan reaksi antara dinding sel dengan pewarnaan pertama, sedangkan fungsi dari etil alkohol adalah pada bakteri Gram positif akan menahan pewarnaan tahap pertama karena peptidoglikan dan asam teichoic terjadi *crosslinks*, dan untuk bakteri negatif pewarnaan pertama akan hilang karena jumlah lipopolisakarida yang besar dalam dinding sel (Delost, 2015).

Pewarnaan Gram terbagi menjadi dua jenis yaitu Gram positif dan Gram negatif. Pewarnaan bakteri gram positif (+) ditandai dengan warna ungu sementara bakteri gram negatif (-) ditandai dengan warna merah. Perbedaan warna pada Gram positif dengan bakteri Gram negatif ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua bakteri tersebut. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan

lipid yang tinggi (kandungan peptidoglikan tipis) (Fitri, 2011). Kelebihan dari pewarnaan Gram yaitu salah satu diantara metode paling sederhana dan murah dalam mendiagnosa dengan cepat infeksi bakteri. Metode tersebut jauh lebih cepat dibandingkan kultur. Kelemahan Metode ini yaitu hanya dapat mengetahui bentuk dan ukuran bakteri dengan melihat struktur dalam bakteri dengan menggunakan zat warna saja (Bulele, 2019).

2.4.4. Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui sifat fisiologis koloni bakteri hasil isolasi. Biokimia bakteri berhubungan dengan proses metabolisme sel bakteri. Identifikasi bakteri tidak dapat dilakukan untuk mengetahui sifat morfologinya, akan tetapi dapat dilakukan untuk mengetahui sifat fisiologis bakteri juga. Sifat fisiologi bakteri penting untuk diketahui jika akan dilakukan identifikasi bakteri, sifat morfologis bakteri akan tampak serupa bahkan tidak dapat dikenali sehingga melalui uji biokimia terhadap koloni bakteri sehingga dapat menentukan spesies bakteri tersebut (Pakpahan, 2013).

Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menfermentasi karbohidrat (*Glukosa*, *Laktosa*, serta *Sukrosa*). Kandungan dari TSIA adalah *phenol red* yang berfungsi sebagai indikator keasaman dan *ferrous sulfate* yang berfungsi sebagai pembentuk hidrogen sulfida (H_2S). Bakteri diketahui dapat melakukan fermentasi Glukosa jika terdapat adanya warna kuning (*Asam*) pada dasar media dan warna merah pada tepi media (*Basa*) media alkali atau acid. Jika bakteri dapat menfermentasi seluruh karbohidrat, maka akan terdapat warna kuning pada dasar media (*Asam*). Jika

bakteri tidak bisa menfermentasi seluruh karbohidrat maka akan terdapat warna merah di dasar media (*Basa*) serta terdapat warna merah pada bagian tepi media (*Basa*) (Anggraini, 2016).

Uji *Simmon's Citrat Agar* (SCA) berfungsi untuk mengetahui adanya sumber sitrat pada karbon bakteri. Hasil uji citrat diketahui negatif (-) jika pada media tidak terjadi perubahan warna dari hijau menjadi biru. Jika positif (+) pada media terjadi perubahan warna dari hijau menjadi biru, dapat disimpulkan bahwa salah satu sumber karbon bakteri menggunakan sitrat (Ummamie, *et al.*, 2017).

Uji *Sulfidae Indole Motility* (SIM) berguna untuk mengetahui kandungan enzim tryptophanase dalam bakteri, sehingga bakteri dapat mengoksidasi asam amino triptopan membentuk indol. Keberadaan indol dapat diketahui dengan menambahkan reagen *ehrllich/kovac's* yang mengandung para-dimetilamino benzaldehida. Hasil uji indol dapat diketahui negatif (-) jika tidak adanya bentukan yang memiliki warna merah seperti lapisan cincin pada permukaan biakan. Jika positif (+) maka akan terdapat bentukan warna merah seperti lapisan cincin pada permukaan biakan bakteri, karena sumber karbon berasal dari triptophan yang dapat membentuk indol (Lumantouw, 2013).

Uji Urease bertujuan untuk mengetahui kandungan enzim urease pada bakteri, dengan menguraikan urea menjadi ammonium dan CO₂. Bakteri Gram negatif berbentuk batang sebagian besar memiliki enzim urease. Hasil uji dapat dikatakan negatif (-) jika pada media tidak terjadi perubahan warna menjadi merah muda maupun pink. Jika positif (+) pada media terjadi perubahan warna

menjadi merah maupun pink, dapat dikatakan jika bakteri mengandung enzim urease maka dapat memecah urea membentuk amonia (Anggraini, 2016).

Uji *Methyl Red - Voges Proskauer* (MR-VP) bertujuan mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam mengoksidasi glukosa dengan menghasilkan asam sebagai produk akhir dan berkonsentrasi tinggi dengan tes MR. Uji VP ditujukan untuk mengevaluasi kemampuan organisme menghasilkan substansi non asam atau produk akhir netral seperti asetilmetil karbonil dari asam organik sebagai hasil metabolisme glukosa. Cara untuk mengetahui sifat-sifat tersebut masing-masing biakan bakteri ditetesi dengan reagen MR dan reagen VP. Hasil MR positif apabila terbentuk kompleks berwarna merah muda sampai merah yang menandakan bahwa mikroba tersebut menghasilkan asam. Hasil VP positif medium berubah warna lembayung (ungu dan patma) pada permukaan media dan hasil negatif menunjukkan media tidak mengalami perubahan warna (Isnaeni, 2016).