PENGUJIAN *Salmonella* PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon)* BEKU Di BALAI BESAR KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN (BBKIPM) MAKASSAR

TUGAS AKHIR

OLEH

MARCE

1422030424

JURUSAN STUDI TEKNOLOGI PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN

POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PANGKAJENE DAN KEPULAUAN

2017

HALAMAN PENGESAHAN

PENGUJIAN *Salmonella* PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon)* BEKU Di BALAI BESAR KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN (BBKIPM) MAKASSAR

TUGAS AKHIR

OLEH

MARCE

1422030424

Tugas Akhir ini salah satu Syarat untuk Menyelesaikan Studi pada Politeknik Pertanian Negeri Pangkep

Telah diperiksa dan disetujui oleh pembimbing

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Luthfiah, ST, M.Si	**Dr. A. Ridwan Makkulawu, ST, M.Si**
NIP. 19731208 19993 2001	**NIP. 19750626 200112 1001**

Diketahui oleh :

Direktur	Ketua Program Studi
Dr. Ir. H. Darmawan, M.P	**Ir. Nurlaeli Fattah, M.Si**
NIP. 19670202 199803 1 002	**NIP. 19960807 199512 2 001**

Tanggal Lulus :

LEMBAR PERSETUJUAN PENGUJI

Judul	:	Pengujian *salmonella* pada udang windu (*penaeus monodon)* Beku Di Balai Besar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan
Nama Mahasiswa	:	Marce
Nomor Pokok	:	1422030424
Jurusan	:	Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan
Program Studi	:	Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan

Disetujui Oleh

Tim Penguji

1. Dr. Luthfiah, S.TP, M.Si (.....)
2. Dr. A. Ridwan Makkulau, ST, M.Si (.....)
3. Ir. Muhammad Fitri, M (.....)
4. Syamsuar, S.Pi, M.Si (.....)

RINGKASAN

MARCE 1422030424, Pengujian *Salmonella* pada produk udang windu (*Panaeus monodon)* Beku di Balai Besar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BBKIPM) Makassar, Sulawesi Selatan dibawah bimbingan **Luthfiah, S.TP, M.Si** dan **A. Ridwan Makkulau, ST, M.Si**

Udang merupakan komoditi ekspor yang banyak menghasilkan devisa bagi Negara. Sebagai komoditi ekspor, keberhasilan pemasaranya sangat ditentukan oleh mutu produk tersebut. Oleh karena itu untuk mendapatkan mutu produk akhir yang baik diperlukan penanganan semaksimal mungkin sejak udang di tangkap, di atas kapal / di darat, pengolahan hingga distribusi. Selain iu aspek hygiene dalam produk harus diterapkan. Kualitas produk dapat diketahui dengan pengujian kimia, mikrobiologi dan organoleptik. Salah satu uji mikrobiologi yangserring dilakukan adalah uji *Salmonella.*

Tujuan Penulisan Tugas akhir ini adalah untuk mengetahui cara identifikasi *Salmonella* pada udang windu *(Penaeus monodon)* Beku. Tugas Akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.

Penulisan Tugas akhir ini berdasarkan Pengalaman Kerja Praktek Mahasiswa (PKPM) yang telah dilaksanakan pada Tanggal 31 Januari – 7 April 2017 di Laboratorium Balai Besar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BBKIPM) Makassar, kegiatan ini dilakukan dengan pengamatan langsung serta studi kepustakaan.

Salmonella merupakan salah satu bakteri patogen yang sangat berbahaya bagi manusia dan apabila masuk kedalam tubuh melalui makanan, terutama *Salmonella*

typosa dapat menyebabkan penyakit tipus. Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.1.2006, *Salmonella* harus negatif pada produk udang beku ekpor.

Hasil pengujian *Salmonella* pada Udang Windu Beku dengan kode 02 dan 05 adalah negatif. Hal ini menujukkan bahwa penanganan dan pengolahan yang dilakukan pada udang windu cukup baik dan telah memenuhi standar yang telah ditetapkan dan layak untuk di ekspor (SNI 01-2332.1.2006)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahi Rabbil Alamin, Puji Syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas akhir yang berjudul Pengujian *Salmonella* pada Udang windu (*Penaeus monodon)* di Balai Besar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan ((BBKIPM) Makassar, Sulawesi Selatan yang berlangsung mulai Tanggal 31 Januari – 07 April 2017. Sebagai salah satu syarat yang harus dipenuhi oleh setiap mahasiswa untuk menyelsaikan program studi D3 Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan ((TPHP) Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.

Dalam menyusun Tugas Akhir ini tidak terlepas dari petunjuk dan bimbingan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Ibu Luthfiah, S.TP, M.Si dan Bapak A. Ridwan Makkulau, ST, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu untuk memberikan petunjuk dan bimbingan selama penyusunan Tugas akhir ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Ir. Darmawan, M.Si selaku Direktur Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.
2. Ibu Ir. Nurlaeli Fattah, M.Si selaku Ketua Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Politeknik Pertanian Negeri Pangkep yang telah memfasilitasi selama perkuliahan berlangsung di Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan
3. Serta para pegawai Balai Besar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BBKIPM) Makassar yang tidak bias saya sebut satu persatu yang turut membantu dan bekerjasama dalam kegiatan prakek.
4. Teman-teman Jurusan Teknologi Pengolahan hasil Perikanan khususnya angkatan XXVII Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.
5. Terkhusus kedua orang tuaku Mariana dan Martinus yang telah membiayai semua kebutuhan dan memberikan motivasi beserta keluarga besar berserta kakak Rosina dan Adik-adikku yang senantiasa mendoakan dan pengertian serta selalu

memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis. Penulis berharap semoga Allah SWT membalas kebaikan yang telah diberikan.

Akhirnya penulis berharap bahwa Tugas akhir ini dapat memberikan manfaat bagi yang memerlukannya. Penulis menyadari Tugas akhir ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh sebab itu,penulis mengharapkan kriktik dan saran yang sifatnya membangun guna penyempurnaan dan perbaikan di kesempatan yang akan datang.

Pangkep Mei 2017

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PENGESAHAN ..... **i**
HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI ..... **ii**
RINGKASAN ..... **iii**
KATA PENGANTAR ..... **iv**
DAFTAR ISI ..... **vi**
DAFTAR TABEL ..... **viii**
DAFTAR GAMBAR ..... **ix**
BAB I. PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Tujuan dan Kegunaan 2

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Klasifikasi Udang Windu 3
2.2 Morfologi Udang Windu 4
2.3 Persyaratan mutu Udang Segar 5
2.4 Proses Kemunduran Mutu Udang 6
2.5 Keberadaan Mikroba pada Makanan 8
2.6 Bakteri *Salmonella* pada Udang 9
2.7 Pengaruh Pembekuan terhadap Mikroba 11

BAB III. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat 13
3.2 Metode pelaksanaan 13
3.3 Metode Pengumpulan Data 13
3.4 Alat dan Bahan 14
3.5 Prosedur Kerja 16
3.5.1 Preparasi sampel 16
3.5.2 Prosedur 16
3.5.2.1 Pra pengkayaan 16
3.5.2.2 Pengkayaan 17
3.5.2.3 Isolasi *Salmoella* 18
3.5.2.4 Identifikasi *Salmonella* 23

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil 33
4.2 Pembahasan 33
4.2.1 Hasil pengujian *Salmonella* pada Preparasi sampel 34
4.2.2 Hasil Analisa pada Pra Pengkayaan dan Pengkayaan 34
4.2.3 Hasil Isolasi *Salmonella* 36

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan 40
5.2 Saran 40

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

RIWAYAT HIDUP

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
1.	Spesifikasi Persyaratan mutu udang segar	8
2.	Ketentuan pengambilan contoh uji	16
3.	Reaksi TSI dan LIA	22
4.	Interpretasi Hasi	29
5.	Kriteria untuk pemisahan kultur non *Salmonella*	33
6.	Hasil pengujian Udang Windu	33

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
1.	Taksonomi *Salmonella*	4
2.	Udang windu	5
3.	Tahap persiapan dan penimbangan sampel	16
4.	Tahap pra-pengkayaan	17
5.	Tahap pengkayaan	18
6.	Isolasi Media Agar (media selektif agar)	18
7.	Morfologi koloni *Salmonella* spp yang khas (typical)	20
8.	Morfologi koloni *Salmonella* sp yang tidak khas (typical)	21
9.	Tahap TSIA dan LIA menunukkan ciri koloni *Salmonella* sp	22
10.	Kultur Urease negatif dan positif	24
11.	Kultur Dulcitol negatif dan positif	25
12.	Kultur malonet negatif dan positif	26
13.	Kultur TB negatif dan positif	26
14.	Kultur Sucrosa negatif dan positif	27
15.	Kultur VP negatif dan positif	28

16. Kultur MR negatif dan positif 28

17. Kultur SCA negatif dan positif 29

18. LB Setelah Diinkubasi Data Primer (2017) 35

19. RV dan TTB Setelah Diinkubasi Data Primer (2017) 36

20. HE,XLD dan BSA setelah diinkubasi Data Primer (2017) 38

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang merupakan salah satu bahan makanan sumber protein hewani yang bermutu tinggi. Bagi Indonesia udang merupakan primadona ekspor non migas. Permintaan konsumen dunia terhadap udang rata-rata naik 11,5% per tahun. Walaupun masih banyak kendala, namun hingga saat ini negara produsen udang yang menjadi pesaing baru ekspor udang Indonesia terus bermunculan. Budidaya udang windu di Indonesia dimulai pada awal tahun 1980-an, dan mencapai puncak produksi pada tahun 1985-1995. Sehingga pada kurun waktu tersebut udang windu merupakan penghasil devisa terbesar pada produk perikanan.

Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) masih menempatkan udang sebagai komoditas andalan perikanan budidaya selama 2010-2014. Direktur Jenderal (Dirjen) Perikanan Budidaya Made L Nurdjana, mengatakan, selama periode 2010-2014 produksi udang diharapkan naik 74,75% dari 400 ribu ton menjadi 699 ribu ton, terdiri udang vaname dan windu (Susaptoyono, 2011).

Selain menjadi produk andalan ternyata udang juga kaya akan kandungan senyawa yang terdapat dalam tubuhnya dan sangat berguna bagi manusia yaitu protein, lemak, karbohidrat, vitamin dan garam-garam mineral selain itu udang merupakan sumber protein yang sangat potensial. Protein yang ada pada udang diperoleh dari asam amino esensial dan non esensial yang sangat mudah mengalami kemunduran mutu, oleh karena itu kesegaran dari udang perlu dipertahankan dengan penanganan misalnya dengan pendinginan atau pembekuan untuk mempertahankan kesegarannya.

Saat ini permintaan udang untuk kebutuhan ekspor terus mengalami peningkatan, hal itu juga diikuti dengan permintaan para konsumen yang menghendaki makanan terbebas dari cemaran mikroba dan kalaupun tercemar masih bisa ditoleransi sehingga konsumen merasa aman apabila mengkonsumsinya. Salah

satu persyaratan yang harus dipenuhi oleh negara pengimpor khususnya dalam bidang perikanan yaitu produk harus terbebas dari bakteri patogen termasuk Bakteri *Salmonella*. Oleh karena itu diperlukan pengetahuan tentang analisis bakteri *Salmonella*.

1.2 Tujuan dan kegunaan

Penulisan tugas akhir ini bertujuan untuk mengetahui analisa bakteri salmonella pada produk udang windu beku.

Kegunaannya adalah dapat memberikan informasi tentang cara mendeteksi adanya kandungan salmonella pada produk udang windu beku serta dapat memberikan informasi kepada masyarakat luas tentang kontaminasibahan makanan dan bahaya terhadap manusia.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Klasifikasi Udang Windu

Udang windu digolongkan ke dalam keluarga Penaeid pada filum Arthropoda. Terdapat ribuan spesies dalam filum ini, namun yang mendominasi perairan berasal dari subfillum Crustacea. Soetomo (2000)



Gambar.1 udang windu

Berikut tata nama udang windu kompilasi dari Soetomo (2000):

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Metazoa
Fillum	: Arthropoda
Subfillum	: Crustacea
Kelas	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Famili	: Penaeidae
Genus	: Penaeus
Spesies	: Penaeus monodon

2.2. Morfologi Udang Windu

Tubuh udang dapat dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian kepala dan bagian badan. Bagian kepala menyatu dengan bagian dada disebut cephalothorax yang terdiri dari 13 ruas, yaitu 5 ruas di bagian kepala dan 8 ruas di bagian dada. Bagian badan dan abdomen terdiri dari 6 ruas, tiap-tiap ruas (segmen) mempunyai sepasang anggota badan (kaki renang) yang beruas-ruas pula. Pada ujung ruas keenam terdapat ekor kipas 4 lembar dan satu telson yang berbentuk runcing. (Suyanto dan Mujiman 2004)

A. Bagian Kepala

Bagian kepala dilindungi oleh cangkang kepala atau Carapace. Bagian depan meruncing dan melengkung membentuk huruf S yang disebut cucuk kepala atau rostrum. Pada bagian atas rostrum terdapat 7 gerigi dan bagian bawahnya 3 gerigi untuk *P. monodon*. Bagian kepala lainnya adalah :

Sepasang mata majemuk (mata facet) bertangkai dan dapat digerakkan.

1. Mulut terletak pada bagian bawah kepala dengan rahang (mandibula) yang kuat.
2. Sepasang sungut besar atau antena.
3. Dua pasang sungut kecil atau antennula.
4. Sepasang sirip kepala (Scophocerit).
5. Sepasang alat pembantu rahang (Maxilliped).
6. Lima pasang kaki jalan (pereopoda), kaki jalan pertama, kedua dan ketiga bercapit yang dinamakan chela.
7. Pada bagian dalam terdapat hepatopankreas, jantung dan insang.
8. Bagian Badan dan Perut (Abdomen) (Suyanto dan Mujiman 2004)

b. Bagian badan tertutup oleh 6 ruas, yang satu sama lainnya dihubungkan oleh selaput tipis. Ada lima pasang kaki renang (pleopoda) yang melekat pada ruas pertama sampai dengan ruas kelima, sedangkan pada ruas keenam, kaki renang mengalami perubahan bentuk menjadi ekor kipas (uropoda). Di antara ekor kipas terdapat ekor yang meruncing pada bagian ujungnya yang disebut telson. Organ dalam yang bisa diamati adalah usus (intestine) yang bermuara pada anus yang terletak pada ujung ruas keenam. (Amri 2006)

2.3. Persyaratan mutu udang segar

Udang merupakan komoditas ekspor Indonesia yang merupakan sumber pemasukan negara. Namun udang merupakan komoditas yang mudah atau cepat busuk, oleh karena itu tuntutan terhadap standar mutu dan keamanan produk perikanan semakin kuat. Menurut Ilyas (1993), persyaratan mutu udang dapat ditentukan dengan dua cara yaitu persyaratan bahan mentah dan spesifikasi produk akhir. Spesifikasi persyaratan mutu bahan baku udang segar berdasarkan SNI 01-2705-1992 yaitu :

Tabel 1. Spesifikasi Persyaratan mutu udang segar.

Jenis Uji	Satuan	Persyaratan Mutu
a. organoleptik		7
b. Cemaran Mikroba		
1). ALT/gr, maks	Koloni/gram	$5x10^5$
2). *Eschericia Coli*	APM/gram	<3
3). *Salmonella*)*	Per 25 gram	Negatif
4). *Vibrio Cholerae*	Per 25 gram	Negatif
5). *Vibrio Parahaemoliticus*)*	APM/0,1 gram	< 0,3

sumber : Direktur Jenderal Perikanan (1992), SNI No. 01-2728-1992

keterangan : *) bila diminta importir

ALT : Angka Lempeng Total

APM : Angka Paling Mungkin

2.4. Proses Kemunduran Mutu Udang

Moeljanto (1992) menyatakan bahwa kemunduran mutu, udang segar juga sangat berhubungan dengan perlakuan fisik terhadap tubuhnya. Sebagai salah satu jenis bahan makanan yang sangat cepat mengalami kemunduran mutu, maka penanganan udang segar perlu mendapatkan perhatian dan perlakuan yang cermat. Tanda-tanda udang yang masih segar dan baik mutunya adalah :

- Rupa dan warna ; utuh, bening, sambungan antara kepala dan ekor serta antara ruas kokoh.
- Bau ; segar dan spesifik serta bau amoniak yang menusuk belum ada sama sekali.
- Daging ; tekstur elastis, warna daging bening dan bercahaya.

Proses kemunduran mutu udang dapat disebabkan oleh faktor-faktor yang berasal dari badan udang itu sendiri dan faktor lingkungan. Penurunan mutu ini terjadi secara autolisis, bakteriologis dan oksidatif. Kemunduran mutu udang sangat berhubungan dengan komposisi kimia dan susunan tubuhnya. Sebagai produk biologis, udang termasuk bahan makanan yang mudah busuk bila dibandingkan dengan ikan. Oleh karena itu, penanganan udang segar memerlukan perhatian dan perlakuan yang cermat. Bagian kepala merupakan bagian yang sangat berpengaruh terhadap daya simpan karena bagian kepala mengandung enzim pencernaan dan bakteri pembusuk (Agung 2007).

Kerusakan biokimia disebabkan oleh kerusakan enzim yang ada dalam tubuh udang. Enzim tersebut menguraikan atau membongkar senyawa-senyawa makromolekul dan mudah menguap sehingga timbul bau busuk atau tidak sedap (Wahyudi 2003).

Kerusakan mikrobiologi dipacu oleh pertumbuhan mikroba yang terdapat dalam tubuh dan permukaan udang, setelah udang mati pertahanan tubuhnya

berkurang sehingga mikroba dapat menyerang daging udang. Pengaruh lingkungan seperti sinar matahari dan suhu dapat menjadi penyebab utama kerusakan fisik. Peningkatan suhu dapat mempercepat proses oksidasi dan tekstur udang menjadi lunak (Wahyudi 2003).

Salah satu cara untuk menghambat proses penurunan mutu udang segar adalah dengan pembekuan yang merupakan cara yang paling baik untuk penyimpanan jangka panjang. Apabila cara pengolahan dan pembekuan dilakukan dengan baik dan bahan mentahnya masih segar, maka dapat dihasilkan udang beku yang bila dicairkan mendekati sifat-sifat udang segar (Moeljanto 1992).

Kemunduran mutu udang dimulai setelah udang mati dan terus berlangsung tanpa kontrol hingga udang terdekomposisi sempurna. Pola penurunan mutu udang secara umum tidak jauh berbeda, baik secara enzimatis, kimiawi, mikrobiologi serta deteorisasi. Pada suhu pantai yang tinggi (32,2°C-38,5°C) udang tambak setelah penyimpanan selama enam jam pasca panen sudah ditolak. Akan tetapi apabila dilakukan penganan suhu rendah misalnya dengan disimpan dalam es, maka mutu kesegaran dapat bertahan hingga beberapa hari. (Moeljanto 1992)

Salah satu yang menyebabkan mutu udang rendah adalah timbulnya bercak hitam atau melanosis pada kulit yang biasa disebut dengan black spot. Black spot akan tetap timbul meskipun udang langsung didinginkan setelah dipanen. Umumnya bercak hitam akan timbul antara 2-4 hari setelah panen. Noda itu mulai berkembang dari bagian kepala lalu meluas ke membran kulit pada ruas-ruas tubuh hingga sirip ekor. Pada tingkat lanjut meluas ke bagian kaki dan akhirnya keseluruh bagian tubuh. Udang yang bermutu baik akan memperlihatkan kenampakan yang segar, dengan warna dan bau yang khas sesuai spesifiknya. Namun setelah kenampakannya pucat dan lembek dengan bau yang tengik, udang sudah dikatakan busuk. (Moeljanto 1992)

2.5. Keberadaan Mikroba Pada Makanan

Makanan merupakan kebutuhan pokok bagi setiap manusia, karena didalamnya terkandung senyawa-senyawa yang sangat diperlukan untuk memulihkan dan memperbaiki jaringan tubuh yang rusak, mengatur proses di dalam tubuh,

perkembangbiakan dan menghasilkan energi untuk kepentingan berbagai kegiatan dalam kehidupannya. (Imam dan Sukamto, 1999)

Komposisi umum bahan makanan terdiri atas protein, karbohidrat dan lemak. Bahan makanan dengan komposisi demikian merupakan medium pertumbuhan mikroba, dalam pertumbuhannya jasad renik ini bergantung kepada jenisnya, dapat membusukkan protein, memfermentasikan karbohidrat dan menjadikan lemak dan minyak berbau tengik (Imam dan Sukamto, 1999)

Populasi mikroorganisme pada makanan dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti tersedianya nutrien, air, suhu, pH, oksigen, potensial oksidasi reduksi dan adanya zat penghambat. Menurut Imam dan Sukamto (1999), menyebutkan bahwa jasad renik ini populasinya meningkat, dapat menimbulkan berbagai masalah antara lain :

1. Dapat menurunkan mutu bahan baku.
2. Mengakibatkan kerusakan pangan
3. Beberapa diantaranya dapat digunakan untuk membuat produk-produk pangan khusus.
4.Merupakan sarana penularan beberapa penyakit perut menular
5. Keracunan makanan, yang jarang menimbulkan kematian.

Dengan demikian keberadaan mikroorganisme yang dapat menimbulkan kerugian, tetapi dapat pula mendatangkan keuntungan. Sehingga keberadaan mikroorganisme tersebut dimanfaatkan dengan baik. (Imam dan Sukamto, 1999)

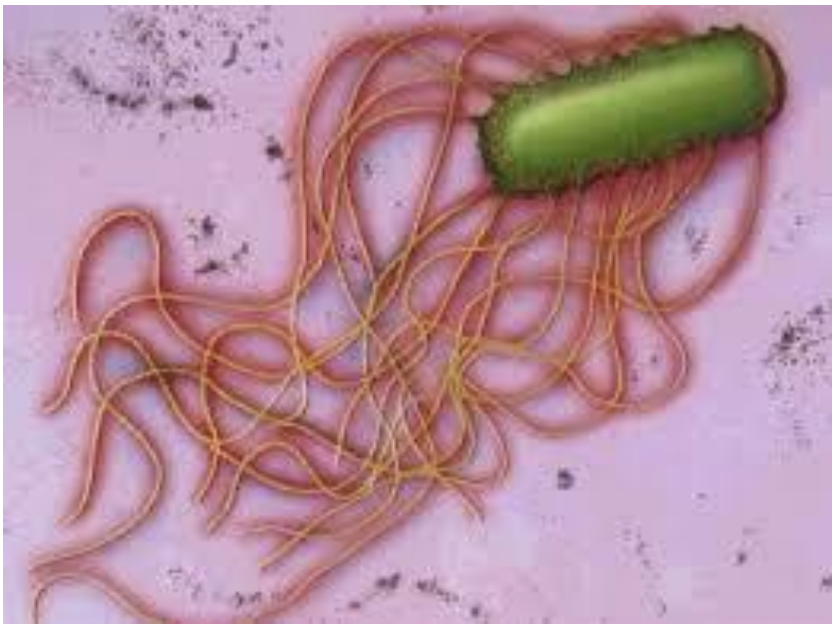
2.6. Bakteri Salmonella Pada Udang

Salmonella merupakan bakteri Gram-negatif, bersifat anaerob fakultatif, motil, dan tidak menghasilkan spora. *Salmonella* bisa terdapat pada bahan pangan mentah, seperti telur dan daging ayam mentah serta akan bereproduksi bila proses pamasakan tidak sempurna. Sakit yang diakibatkan oleh bakteri *Salmonella* dinamakan salmonellosis. Cara penularan yang utama adalah dengan menelan bakteri dalam pangan yang berasal dari pangan hewani yang terinfeksi. Pangan juga dapat

terkontaminasi oleh penjamah yang terinfeksi, binatang pemeliharaan dan hama, atau melalui kontaminasi silang akibat higiene yang buruk. Penularan dari satu orang ke orang lain juga dapat terjadi selama infeksi. (Sartika 2012)

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 bakteri *E. coli* jika dilihat dengan mikroskop ataupun dengan menumbuhkannya pada media yang mengandung nutrien 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 70^0C dan pasteurisasi pada suhu $71,1^0$C selama 15 menit (Cox et al, 2000). *Salmonella* mampu memfermentasi glukosa dan monosakarida lainnya dengan menghasilkan gas, lalu 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).

Bakteri *Salmonella* pertama kali ditemukan tahun 1885 pada tubuh babi oleh Theobald Smith (yang terkenal akan hasilnya pada anafilaksis), namun Salmonella dinamai dari Daniel Edward Salmon, ahli patologi Amerika (Ryan KJ dan Ray CG, 2004).



Gambar 2. Taksonomi *Salmonella*

Taksonomi dari *Salmonella* adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Bacteria

Filum : Proteobakteria

Kelas : Gamma Proteobakteria

Ordo : Enterobakteriales

Famili : Enterobakteriaceae

Genus : Salmonella

Spesies : S. enterica dan S. bongori (D'aoust, 2001)

- Gejala keracunan:

Pada kebanyakan orang yang terinfeksi *Salmonella*, gejala yang terjadi adalah diare, kram perut, dan demam yang timbul 8-72 jam setelah mengkonsumsi pangan yang tercemar. Gejala lainnya adalah menggigil, sakit kepala, mual, dan muntah. Gejala dapat berlangsung selama lebih dari 7 hari. Banyak orang dapat pulih tanpa pengobatan, tetapi infeksi *Salmonella* ini juga dapat membahayakan jiwa terutama

pada anak-anak, orang lanjut usia, serta orang yang mengalami gangguan sistem kekebalan tubuh.

- Penanganan:

Untuk pertolongan dapat diberikan cairan untuk menggantikan cairan tubuh yang hilang. Lalu segera bawa korban ke puskesmas atau rumah sakit terdekat. *Salmonella* adalah salah satu bakteri yang seringkali menyebabkan penyakit yang cukup serius apabila mencemari makanan maupun minuman yang dikonsumsi manusia. *Salmonella* memiliki kekerabatan yang dekat dengan bakteri genus *Escherichia* dan dapat dijumpai hampir di seluruh dunia. *Salmonella* juga dapat hidup pada tubuh makhluk hidup yang berdarah dingin maupun berdarah panas (D'aoust, 2001)

2.7. Pengaruh Pembekuan Terhadap Mikroba.

Mikroba dapat diklasifikasikan atas dasar suhu optimum untuk pertumbuhannya. Umumnya mikroba tidak dapat tumbuh pada suhu di bawah 32ºF, akan tetapi diketahui bahwa ada beberapa jenis khamir yang dapat tumbuh pada suhu serendah 15ºF dalam substrat yang tidak beku. Umumnya khamir dan cendawan mampu tumbuh pada suhu yang lebih rendah dari pada yang mendukung pertumbuhan mikroba. Pendinginan lambat dapat merusak populasi mikroba (Supardi dan Sukamto, 1999).

Bakteri patogenik yang masih hidup dan berada dalam bahan pangan beku selama periode 6 bulan pada suhu 0ºF akan mengalami penurunan populasi menjadi 10% dari kandungan awalnya. Pengaruh langsung dari pembekuan terlihat dalam suatu penurunan jumlah populasi yang tajam, diikuti dengan pengaruh mematikan yang kurang drastis.

Pembekuan dan pencairan yang berulang-ulang dari suatu kultur bakteri didalam pertumbuhan vegetatif mempunyai pengaruh mematikan yang drastis. Suhu bahan baku tersebut dicairkan juga mempunyai pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan mikroba (Supardi dan Sukamto, 1999).

BAB III
METODOLOGI

3.1. Waktu dan tempat

Penulisan Tugas Akhir ini dilaksanakan berdasarkan PKPM yang dilakukan di Laboratorium Balai Besar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Makassar selama kurang lebih tiga bulan yaitu mulai 31 Januari sampai 7 April.

3.2. Metode Pelaksanaan

Metode yang digunakan dalam kegiatan di Laboratorium Balai Besar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BBKIPM) Makassar, adalah praktek langsung dan berperan aktif mulai dari proses penerimaan dan pengujian sampai produk siap di ekspor dan melakukan pengamatan serta tanya jawab langsung dengan pegawai yang ada di labortorium pengujian.

3.3. Metode Pengumpulan Data

Adapun metode penulisan yang ditetapkan dalam penyusunan tugas Akhir ini adalah dengan melakukan pengumpulan data yaitu :

Pengumpulan Data Primer

Data primer diperoleh dengan cara pengambilan data hasil analisis Bakteri *Salmonella* pada udang windu beku setelah dilakukan inkubasi.

Pengumpulan data Sekunder

Data sekunder diperoleh melalui Studi pustaka dan pengumpulan data dari buku-buku yang relevan dengan melakukan praktek lapangan.

3.4. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang berhubungan dengan prosedur pengujian dan peralatan lainnya yang berkaitan dengan pelaksanaan praktek.

- Timbangan
- Blender
- Pipet skala
- Petridish
- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Inkubator
- Waterbath
- Talenan
- Plastik steril
- Gelas ukur
- Erlenmeyer
- Laminary
- Aluminium foil
- Jarum ose
- Autoclave
- Stomacher
- Bunsen
- pH meter
- spatula
- oven
- Gunting
- Pisau
- Pinset
- Hot plate dan stirer

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam pelaksanaan praktek adalah udang segar dan udang mentah beku yang dihasilkan oleh perusahaan sebagai sampel untuk bahan uji organoleptik, mikrobiologi dan histamin serta media dan regensia untuk pengujian laboratorium.

- *Bismuth sufite Agar* (BSA)
- *Hectoen Enteric* (HE) *Agar*
- *Lactose Broth* (LB)
- *Lysine Iron Agar* (LIA)
- *Malonate Broth*
- *Motility Test Medium*
- *MR-VP broth*
- Phenol red Carbohydrate Broth
- Purple Carbohydrate Broth
- Rapport-Vassiliadis (RV) medium
- Simmon Citrate Agar (SCA)
- Tetrathionate Broth (TTB)
- Triple Sugar Iron Agar (TSIA)
- Bakteri Kontrol positif
- TSB Typose
- Tryptone Broth
- Xylose Lysine Desoxycholate (XLD)
- Aquadest
- Ethanol 70%
- Larutan Brilian green dye
- Reagen Kovacs
- Indikator Methyl Red
- Larutan Physiological Saline 0,85%
- Larutan potasium Hidroxida 40%
- Reagen VP

3.5. Prosedur Kerja:

3.5.1 Preparasi contoh: Dengan menerapka teknik aseptik, contoh diambil secara acak dan dipotong kecil-kecil hingga berat masing-masing contoh yang akan diuji sesuai ketentuan pada tabel di bwah ini.

Contoh beku di towing pada saat akan dianalisa. Towing selama 18 jam pada suhu sekitar 2^0C – 5^0C atau dibawa 45^0C dan tidak lebih dari 15 menit.

Tabel 2. Ketentuan pengambilan contoh uji

Berat contoh	**Bera contoh yang akan diuji**
<1 kg atau 1 l	100 gram atau 100 ml
1 kg atau 1 l – 4,5 atau 4,5 l	300 gram aau 300 ml
>4,5 kg atau 4,5 l	500 gram atau 500 ml



Gambar 3. Tahap persiapan dan penimbangan sampel

3.5.2 Prosedur

3.5.2.1 pra pengkayaan

3.5.2.1.1 Metode ini berdasarkan pada analisa 25 gram atau 25 ml contoh perbandingan 1 : 9 untuk contoh dan media pengkayaan. Jika pengujian dilakukan secara komposit, maka ditambahkan media pengkayaan yang cukup untuk menjaga perbandingan 1 : 9

3.5.2.1.2 Untuk contoh dengan berat lebih kecil atau sama dengan 1 kg atau 1 liter Contoh uji dengan 4,5 kg atau 4,5 liter, ditimbang

contoh padat sebanyak 25 g atau contoh cair sebanyak 25 ml dari contoh yang akan diuji, kemudian dimasukkan dalam wadah atau plastik steril dan ditambahkan 225 ml larutan *Lactose Broth* (LB);

3.5.2.1.3 Dihomogenkan contoh selama 2 menit untuk dianalisa. Secara aseptik, dipindahkan larutan contoh dalam wadah steril yang sesuai dan dibiarkan pada suhu ruang selama 60 menit dengan wadah tertutup. Dikocok perlahan dan ditentukan pH sampai (6,8 ± 0,2). Dikocok rata dan dikendurkan tutup wadah secukupnya. Diinkubasi 24 jam ± 2 jam pada suhu 35^0C ± 1^0C. Dilanjutkan pengujian sesuai prosedur



Gambar 4. Tahap pra-pengkayaan; Inkubasi 24 jam ± 2 jam pada suhu 35°C

3.5.2.2 Pengkayaan

3.5.2.2.1 Dikencangkan tutup wadah dan dikocok perlahan contoh dan kontrol positif yang dinkubasi. Untuk produk perikanan dengan tingkat kontaminasi tinggi, dipindahkan 0,1 ml larutan contoh kedalam 10 ml *Rappaport-Vassiliadis* (RV) medium dan 1 ml larutan contoh kedalam 10 ml *Tetrathionate Broth* (TTB);

3.5.2.2.2 Diinkubasi media pengkayaan selektif sebagai berikut: diinkubasi RV medium selama 24 jam ± 2 jam pada suhu 42^0C ± $0,2^0$C waterbath).



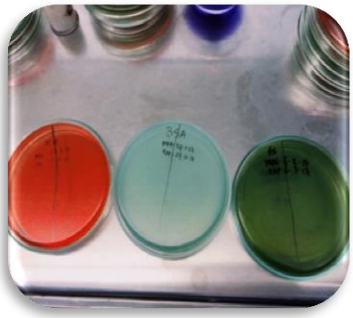

Gambar 5. Tahap pengkayaan

3.5.2.3 Isolasi *Salmonella*

3.5.2.3.1 Dikocok tabung dengan vortex dan dengan menggunakan jarum ose digores TTB yang diinkubasi dalam media HE, XLD dan BSA. Disiapkan BSA sehari sebelum digunakan dan disimpan di tempat gelap pada suhu ruang;

3.5.2.3.2 Digores pada media yang sama dari RV broth;

3.5.2.3.3 Diinkubasi cawan BSA, HE, XLD selam 24 jam ± 2 jam pada suhu 35^0C ± 1^0C;

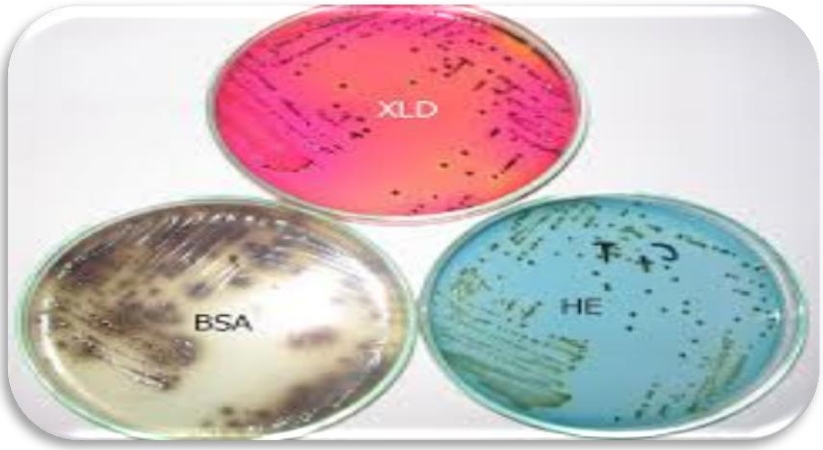
Gambar 6. Isolasi Media Agar (media selektif agar)

3.5.2.3.4 Diamati kemungkinan adanya koloni *Salmonella*

3.5.2.3.5 Pengamatan morfologi koloni *Salmonella* yang khas (typical). Diambil 2 atau lebih koloni *Salmonella* dari masing-masing media Agar selektif setelah 24 jam ± 2 jam inkubasi. Koloni-

koloni *Salmonella* spp yang khas (typical) adalah sebagai berikut:

- HE Agar. Koloni hijau kebiruan sampai biru dengan atau tanpa inti hitam. Umumnya kultur *Salmonella* Spp membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat atau hampir seluruh koloni berwarna hitam;
- XLD Agar. Koloni merah jambu (pink) dengan atau tanpa inti hitam. Umumnya kultur *Salmonella* membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat atau hampir seluruh koloni berwarna hitam;
- BSA Koloni coklat, abu-abu hitam; kadang-kadang metalik. Biasanya media disekitar koloni pada awalnya berwarna cokelat, kemudian berubah menjadi hitam (halo effect) dengan makin lamanya waktu inkubasi. Apabila koloni yang khas (typical) tumbuh pada BSA setelah 24 jam ± 2 jam inkubasi, diambil 2 koloni atau lebih. Diinkubasi kembali media BSA selama 24 jam ± 2 jam. Setelah 48 jam ± 2 jam, diambil atau lebih koloni yang khas (typical) yang tumbuh pada media BSA. pengambilan ini dilakukan hanya bila koloni yang tumbuh pada media BSA yang diinkubasi selama 24 jam ± 2 jam memberikan reaksi yang tidak sesuai pada TSI dan LIA, yang menjadikan kultur ini dinyatakan sebagai bukan *Salmonella*.

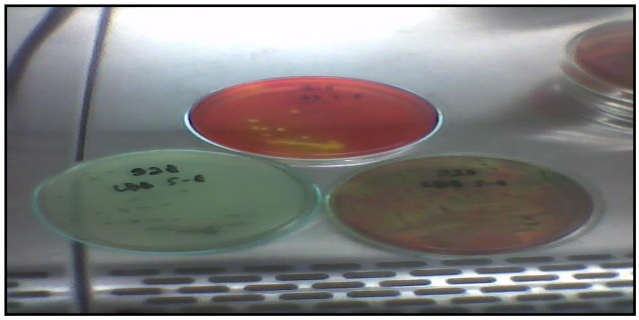


Gambar 7. Morfologi koloni *Salmonella* spp yang khas (typical)

3.5.2.3.6 Pengamatan morfologi koloni *Salmonella* yang tidak khas (Typical)

ciri-ciri *Salmonella* yang tidak khas adalah sebagai berikut:

- HE dan LXD Agar. Beberapa kultur *Salmonella* membentuk koloni berwarna kuning dengan atau tanpa inti hitam. Jika tidak ada koloni khas yang tumbuh pada media HE dan XLD setelah inkubasi 24 jam ± 2 jam atau lebih koloni yang tidak khas
- BSA. Koloni yang tidak khas membentuk koloni yang berwarna hijau dengan sedikit atau tanpa warna kehitaman disekitar media. Jika tidak ada koloni yang khas atau koloni terduga pada media selama 24 jam ± 2 jam, jangan mengambil koloni, tapi inkubasi kembali media selama 24 jam ± 2 jam. Jika tidk ada koloni yang khas atau koloni tersangka pada media BSA setelah inkubasi 48 jam ± 2 jam, Diambil 2 atau lebih koloni yang khas.



Gambar 8. Morfologi koloni *Salmonella* sp yang tidak khas (typical)

3.5.2.3.7 Diamati secara hati-hati bagian tengah koloni dengan menggunakan jarum inkubasi steril dan digoreskan ke permukaan media TSI Agar dengan cara menggores agar mring dan menusuk agar tegak. Tanpa mengambil koloni baru, digunakan jarum yag sama untuk menggores media LIA dengan cara menusuk agar tegak lebih dulu setelah itu digoreskan pada agar miring. Karena reaksi lysine Decarboxylase sangat anaerobic, LIA miring harus mempunyai tusukan yang lebih dalam (4 cm) sampai media selektif yang telah diambil koloni pada suhu $5^0C - 8^0C$.

3.5.2.3.8 Diinkubasi TSI dan LIA selama 24 jam ± 2 jam pada suhu $35^0C - 1^0C$ dengan memberikan tutup sedikit kendur untuk mencegah terbentuknya H_2S yang berlebihan. Pada TSI, kultur *Salmonella* yang khas memberikan reaksi *alkalin* (merah) pada goresan agar miring dan asam (kuning) pada tusukan agar tegak, dengan atau tanpa H_2S (warna kehitaman pada agar). Pada LIA, kultur *Salmonella* yang khas. memberikan reaksi *alkaline* (ungu) pada keseleruhan tabung. Rekasi yang benar-benar kuning pada tusukan dinyatakan sebagai kultur negatif. Janga hanya melihat diskolorisasi pada tusukan untuk menyatakan kultur negatif. Umumnya kultur *Salmonella* mengambil H_2S pada LIA. Beberapa kultur non *Salmonella* membentuk reaksi merah bata pada agar miring LIA. Reaksi TSI dan LIA dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 3. Reaksi TSI dan LIA

Media	**Agar miring (goresan)**	**Agar tegak (tusukan)**	**H2S**
TSIA +/-	lkalin/K(merah)	Asam/A (kuning)	
LIA +/-[a]	Alkalin/K (ungu)	Alkalin/K (ungu)	

[a]umumnya kultur *Salmonella* membentuk H_2S pada LIA

3.5.2.3.9 Semua kultur yang memberikan reaksi *alkalin* pada tusukan agar tegak LIA, tanpa memperhatikan reaksi TSI, harus dipertimbangkan sebagai potesial *Salmonella* dan harus dilakukan pengujian biokimia. Kultur yang memberikan reaksi asam pada tusukan agar tegak LIA dan *alkalin* pada agar miring serta asam pada tusukan agar tegak TSI harus juga dipertimbangkan sebagai potensial *Salmonella* dan harus dilakukan uji biokimia. Kultur yang memberikan reaksi asam pada tusukan agar tegak LIA dan asam baik pada goresan agar miring dan tusukan agar tegak pada TSI, dapat dinyatakan sebagai bukan *Salmonella* . Dilakukan pengujian biokimia terhadap kultur presumtif-posintif TSI sesuai.



Gambar 9. Tahap TSIA dan LIA sebelum dan yang menunjukan ciri koloni *Salmonella* sp

3.5.2.3.10 Uji Biokimia

3.5.2.3.10.1 Tiga kultur presumtif-posintif TSI dari 1 set media selektif (HE, XLD dan BSA) yang digores dari RV *broth* untuk produk perikanan dengan tingkat kontaminasi tinggi jika ada tiga kultur presumtif-posintif TSI dari media selektif yang digoreskan dari TTB jika ada

3.5.2.3.10.2 Jika tiga kultur presumtif-posintif tidak terisolasi dari 1 set media selektif, uji presumtif-posintif TSI yang lain. Diuji sedikitnya 6 kultur TSI untuk setiap contoh yang dianalisa.

3.5.2.4 Identifikasi *Salmonella*

3.5.2.4.1 Kultur campuran

Apabila kultur pada TSI agar terlihat tercampur, maka digoreskan kembali kedalam media HE dan XLD agar, diinkubasi 24 jam ± 2 jam pada suhu 35^0C – 1^0C. Diamati koloni yang dianggap *Salmonella*

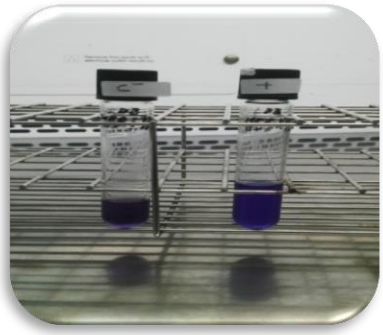
3.5.2.4.2 HE agar; koloni hijau kebiruan sampai biru dengan atau tanpa inti hitam. Pada umumnya kultur *Salmonella* membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat atau hampir seluruh koloni terlihat berwarna hitam;

3.5.2.4.3 XLD agar; koloni merah jambu (pink) dengan atau tanpa inti hitam. Pada umumnya *Salmonella* membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat aau hampir semua koloni terlihat berwarna hitam. Dipindahkan sedikitnya 2 koloni terduga *Salmonella* pada media TSI dan LIA.

3.5.2.4.4 pengujian kultur Urease negatif

a) LDB

Uji ini dilakukan hanya jika reaksi LIA meragukan. Pindahkan 1 ose dari TSIA kedalam media LDB. Kendurkan tutupnya dan inkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35^0C – 1^0C tetapi amati setelah 24 jam. *Salmonella* memberikan reaksi *alkalin* ditandai dengan warna ungu pada seluruh media. Reaksi negatif ditandai warna kuning pada seluruh media. Jika hasil reaksi tidak menunjukkan warna kuning atau ungu tambahkan beberapa tetes 0,2 % *bromocresol purple dye* dan amati perubahan warnanya



Gambar 10. kultur Urease negatif dan positif

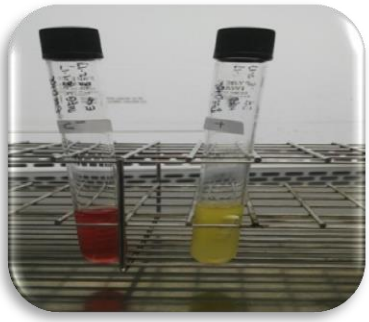
b) Phenol red dulcitol atau purple broth base dengan 0,5 dulcitol

Pindahkan 1 ose dari TSIA ke media dulcitol broth. Kendurkan tutupnya dan inkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35^0C – 1^0C tetapi amati selama 24 jam.

Pada umumnya *Salmonella* memberikan hasil posintif ditandai dengan terbentuknya gas dalam tabung *durham* dan pH asam (kuning) pada media. Reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gas pada tabung *durham* dan warna merah (phenol red sebagai indikator) atau ungu (bromocresol burple sebagai indikator) pada seluruh media.

3.5.2.4.5 Pengujian kultur

3.5.2.4.5.1 Dipindahkan 1 ose dar TSI kedalam media *Dulcitol Broth.* Dikendurkan tutupnya dan diinkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35^0C – 1^0C, tetapi diamati setelah 24 jam. Pada umumnya *Salmonella* memberikan hasi positif, ditandai dengan pembentukan gas dalam tabung *durham* dan pH asam (kuning) pada media. Reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gas pada tabung *durham* dan warna merah (phenol red sebagai indikaor) atau ungu (*bromocresol purple* sebagai indikator) pada seluruh media;



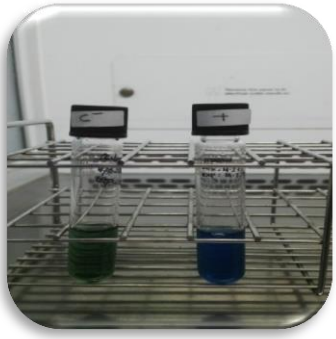
Gambar 11. kultur Dulcitol negatif dan positif

3.5.2.4.5.2 Trytone Broth

Dipindahkan 1 ose dari TSI dalam media *Trytone Broth.* Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35^0C – 1^0C dan selanjutnya diikuti prosedur dibawah ini:

- *Malonate Broth*

  Dipindahkan 1 ose dari TB 24 jam kedalam media *Malonate Broth.* Diinkubasi selama ± 24 jam pada suhu 35^0C ± 1^0C reaksi positif ditandai dengan perubahan warna menjad biru. Pada umumnya *Salmonella* memberikan reaksi negatif (hijau atau tidak ada perubahan warna) pada *Broth* ini.



Gambar 12. kultur malonet negatif dan positif

- Uji *Indol*

  Dipindahkan 5 ml TB 24 jam kedalam tabung kosong dan ditamahkan 0,2 *Reagent Covacs.* Diamati segera setelah penambahan *Reagent*. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan media. Umumny *Salmonela* membentuk reaksi negatif (idak terbentuk cincin merah pada permukaan media)



Gambar 13. kultur TB negatif dan positif

3.5.2.4.6 Uji biokimia tambahan

3.5.2.4.6.1 *Phenol red sucrose* atau *purple sucrose Broth*

Dipindahkan 1 ose dari TSI Agar miring yang diinkubasi selama 24 jam – 48 jam kedalam *Phenol red sucrose* atau *purple sucrose Broth.* Diinkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35^0C ± 1^0C, tetapi diamati setelah 24 jam. **Positif** apabila terjadi pembentukan asam (kuning) dan gas pada tabung *Durham.* Apabila hanya terjadi pembentukan asam maka dapat dinyatakan positif. Umumnya *Salmonella* memberikan hasil negatif, ditunjukan dengan tidak terbentuknya gas pada tabung *durham* dan warna merah (*phenol red* sebagai indikator) atau ungu (*bromocresol purple* sebagai indikator) ada seluruh media. dinyatakan sebagai **bukan** *Salmonella* juga kultur memberikan reaksi asam pada tusukan agar tegak TSI dan reaksi *alkalin* pada LIA



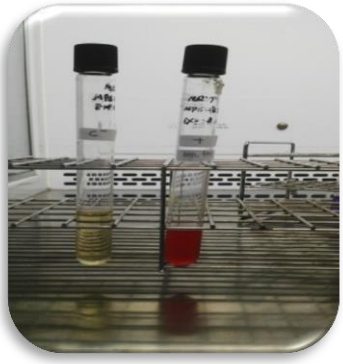
Gambar 14. kultur Sucrosa negatif dan positif

3.5.2.4.6.2 Methyl Red – Viges Proskauer (MR – VP) *Broth*

Dipindahkan 1 ose dari TSI agar mring kedalam media *MR-VP Broth* dan diinkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35^0C ± 1^0C.

- Dilakukan uji *voges- prokauer* (VP) pada suhu ruang sebagai berikut: dipindahkan 1 ml *MR – VP Broth* yang telah diinkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35^0C ± 1^0C kedalam tabung reaksi steril dan diiinkubasi *MR-VP Broth* 48 jam ± 2jam pada suhu 35^0C ± 1^0C untuk pengujian *Methyl Red.*

  Ditambahkan 0,6 ml *Alphanaphtol* dan dikocok. ditambahkan 0,2 ml larutan 40% KOH dan dikocok kemudian untuk mempercepat reaksi, ditambahkan sedikit kristal keratin dan diamati hasilnya setelah 4 jam. Perubahan warna menjadi merah mudah *eosin* sampai merah merah delima (*Ruby)* pada media menunjukan reaksi positif. Umumnya *Salmonella* memberikan reaksi VP negatif.

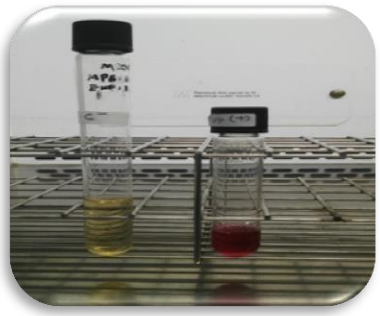


Gambar 15. kultur VP negatif dan positif

- Uji *Methyl Red* (MR)

  Ditambahkan 5 tetes – 6 tet es indikator *Methyl Red* kedalam media MR- VP yang telah diinkubasi

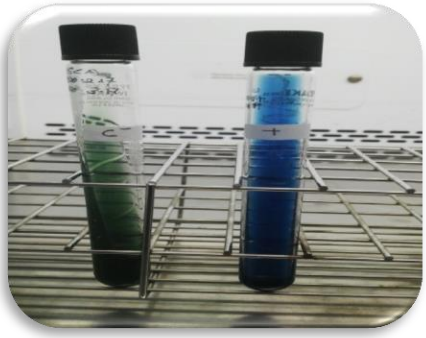
selama 96 jam. Diamati hasinya dengan segera. Umumnya *Salmonella* memberikan reaksi positif, ditandai dengan terjadinya difusi warna merah pada media. Terbentuknya warna kuning menunjukan reaksi negatif. Dinyatakan sebagai **bukan** *Salmonella* kultur yang memberikan reaksi VP positif serta MR negatif.



Gambar 16. kultur MR negatif dan positif

- *Simmons citrate Agar*

Dipindahkan 1 ose dari TSI Agar miring kedalam media *simmons citrate Agar* miring denga cara menggores agar miring dan menusuk agar tegak. Dinkubasi selama 96 jamn ± 2 jam pada suhu 35^0C ± 1^0C. **Positif** apabila terjadi pertumbuhan yang biasanya diikuti dengan perubahan warna dari hijau menjadi biru. Umumnya *Salmonella* memberikan hasil ***citrate*** positif. **Negatif** apabila tidak ada atau sedikit sekali pertumbuhan dan tidak terjadi perubahan warna.



Gambar 17. kultur SCA negatif dan positif

Tabel 4. Interpretasi Hasi

No	Test Subtrate	Hasil Reaksi		*Salmonella*
		Positif	**Negatif**	
1	(Glucose) TSI	Tusukan kuning	Tusukan merah	+
2	Lysine Decarboxylase (LIA)	Tusukan ungu	Tusukan kuning	+
3	H_2S (TSI dan LIA)	Hitam	Tidak hitam	+
4	Urease	Warna ungu sampai merah	Tidak ada perubahan warna	−
5	Lysine Decarboxilase Broth (LDB)	Warna ungu	Warna kuning	+
6	Phenol red Dulcitol Broth	Warna kuning dan atau gas	Tidak ada pembentukan gas dan tidak terjadi perubahan	+[b]

			warna	
7	KCN Broth	Pertumbuhan	Tidak ada pertumbuhan	–
8	Malonate Broth	Warna biru	Tidak ada perubahan warna	_C_
9	Uji Indol	Warna violet pada permukaan	Warna kuning pada permukaan	–
10	Uji Serologi Polyvalent Flagellar (H)	Penggumpalan	Tidak ada penggumpalan	+
11	Uji Serologi Polyvalent Somatic	Penggumpalan	Tidak ada penggumpalan	+
12	Phenol Red lactose Broth	Warna kuning dan/ atau gas	Tdak ada pembentikan gas dan tidak terjai perubahan warna	_C_
13	Phenol red Sucrose Broth	Warna kuning dan/ atau gas	Tidak ada pembentukan gas dan tidak terjadi perubahan warna	–
14	Uji voges Proskauer	Merah mudan sampai merah	Tdak ada perubahan warna	–
15	Uji Methyl red	Warna merah	Warna kuning	+

		menyebar	menyebar	
16	Simmons citrate	Ada pertumbuhan, warna biru	Tidak pertumbuhan dan tidak ada perubahan warna	V

Tabel . Reaksi biokimia dan serologi untuk *Salmonella*

Dengan:

[a]+, 90% atau lebih positif dalam 1 ata 2 hari;

_, 90% atau lebih negatif dalam 1 atau 2 hari;

V, variable;

[b]Mayoritas dari kultur *Salmonella* arizonae; negatif

[c]Mayoritas dari kultur *Salmonella* arizonae; positif.

Riteria

Tabel 5. kriteria untuk pemisahan kultur non *Salmonella*

NO.	PENGUJIAN	HASIL
1	Urease	Positif (warna ungu sampai merah)
2	Uji indol dan Polyvalent flagellar (H)	Positif (warna merah pada permukaan) Negatif (tidak ada pengumpalan
3	Lysine Decarboxylase dan KCN Broth	Negatif (warna kuning) Positif(ada pertumbuhan)
4	Phenol red lactose Broth	Positif (warna kuning d atau gasan/
5	Phenol red sucrosa Broth	Positif (warna kuning dan atau gas)
6	Uji voges- proskauer Uji Methyl Red	Positif(merah mudah sampai merah) Negatif(warna kuning menyebar)