

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *SALMONELLA* SP. PADA DAGING AYAM BROILER DI PASAR TRADISIONAL X

*Isolation and Identification of Salmonella Sp.
on Broiler Chicken Meat in the Traditional Market*

**Ria Anjelifa, Yunita Rusidah, Shinta Dwi Kurnia, Anisa Sholikhati, Yayuk
Mundriyastutik, Arief Adi S**

Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Kudus,
Jl. Ganesha Raya No. 1, Purwosari, Kudus, Indonesia

Korespondensi : riaanjelifa@gmail.com,

Riwayat Artikel: Dikirim; 21 Desember 2024 Diterima; 31 Desember 2024 Diterbitkan : 26 April 2025

Abstrak

Daging ayam adalah sumber protein yang kaya akan vitamin dan mineral untuk mendukung pertumbuhan, pemulihan jaringan, serta menjaga kesehatan tubuh. Meski demikian, proses memasak, penyimpanan, dan penanganan yang kurang tepat dapat mengurangi kandungan nutrisi seperti vitamin dan protein. Selain itu, daging ayam rentan terhadap kontaminasi bakteri *Salmonella* sp., yang dapat menyebabkan infeksi usus. Penelitian dilakukan di Pasar X, diketahui memiliki kondisi sanitasi yang buruk. Pasar tampak kumuh, banyak lalat yang mengerubungi daging, dan penanganan kebersihan oleh pedagang kurang diperhatikan. Sebanyak dua puluh empat sampel daging ayam dari empat pasar tradisional X dipilih secara acak untuk diuji melalui berbagai langkah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi dan mengisolasi bakteri *Salmonella* sp. dari daging ayam broiler yang dijual di Pasar Tradisional Kabupaten X menggunakan metode SNI ISO 6579-1-2017. Metode ini dipilih karena memiliki standar prosedur yang lebih akurat untuk mendeteksi keberadaan *Salmonella* sp. Tahap pre-enrichment menggunakan BPW, pengayaan dengan RVS dan MKTTn, isolasi pada media selektif XLD dan HE, serta konfirmasi melalui pewarnaan Gram dan uji biokimia (Indol, MR, VP, TSIA, dan SCA). Hasil penelitian menunjukkan 7 dari 24 sampel positif mengandung *Salmonella* sp., dengan ciri-ciri koloni hitam, Gram negatif berbentuk batang, serta hasil uji biokimia yang sesuai dengan karakteristik *Salmonella* sp. Penelitian ini menegaskan bahwa sanitasi lingkungan dan akses terhadap air bersih sangat memengaruhi tingkat kontaminasi. Pedagang yang berjualan di dalam pasar cenderung memiliki kondisi kebersihan lebih baik dibandingkan pedagang yang berjualan di sekitar area luar pasar.

Kata kunci: Daging ayam broiler, *Salmonella* sp., Kontaminasi bakteri, Metode SNI ISO 6579-1-2017, Sanitasi pasar tradisional

Abstract

Chicken meat is a source of protein which is rich in vitamins and minerals to support growth, tissue recovery and maintain body health. However, improper cooking, storage and handling processes can reduce nutritional content such as vitamins and protein. In addition, chicken meat is susceptible to contamination by *Salmonella* sp. bacteria, which can cause intestinal infections. Research was conducted at Pasar X, which was found to have poor sanitary conditions. The market looks dirty, there are lots of flies hanging around the meat, and traders pay little attention to hygiene. A total of twenty-four chicken meat samples from four X traditional markets were randomly selected to be tested through various steps. The aim of this research was to identify and isolate *Salmonella* sp. from broiler chicken meat sold at the District X Traditional Market using the SNI ISO 6579-1-2017 method. This method was chosen because it has a more accurate standard procedure for detecting the presence of *Salmonella* sp. The pre-enrichment stage uses BPW, enrichment with RVS and MKTTn, isolation on XLD and HE selective media, and confirmation using Gram staining and biochemical tests (Indol, MR, VP, TSIA, and SCA). The research results showed that 7 of the 24 samples were positive for *Salmonella* sp., with the characteristics of black colonies, gram-negative rods, and biochemical test results that matched the characteristics of *Salmonella* sp. This research confirms that environmental sanitation and access to clean water greatly influence the level of contamination. Traders who sell inside the market tend to have better hygiene conditions than traders who sell in areas outside the market.

Keywords: Broiler chicken meat, *Salmonella* sp., Bacterial contamination, SNI ISO 6579-1-2017 method, Traditional market sanitation

PENDAHULUAN

Ayam pedaging, hasil produksi unggas, merupakan salah satu sumber pangan utama untuk memenuhi kebutuhan manusia. Karena harganya yang terjangkau, kandungan proteinnya tinggi, lemaknya minimal, dan rasanya yang lezat dan menggoda. Ayam pedaging merupakan jenis unggas yang sengaja dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan pangan, terutama dalam produksi daging. Ayam pedaging memiliki keunggulan seperti pertumbuhan yang cepat, efisiensi pakan, dan produksi daging yang tinggi. Keunggulan ini menjadikannya pilihan utama dalam industri peternakan untuk memenuhi kebutuhan protein hewani yang dibutuhkan oleh masyarakat., makanan ini cocok untuk dinikmati oleh semua kalangan usia dan kemudahan pengolahan dan penyimpanan, daging ayam potong

broiler menjadi favorit masyarakat. (Jannah, 2022).

Ada banyak cara untuk membuat ayam potong menjadi makanan yang disukai, mirip dengan ayam goreng renyah, Penelitian yang dilakukan oleh (Ramadani *et al.*, 2023) mengungkapkan bahwa ayam broiler yang renyah dapat terkontaminasi mikroba seperti *Salmonella* sp., yang menghasilkan racun dan berpotensi menyebabkan keracunan.

Ketidakbersihan dalam pengolahan dan penyimpanan bahan mentah ayam broiler adalah penyebabnya. Untuk menghindari kontaminasi mikroba seperti *Salmonella* sp., ayam potong harus diproses dengan hati-hati sebelum dimasak karena tingginya permintaan konsumen, harga murah, dan waktu pengolahan yang singkat. Kesehatan masyarakat dipengaruhi oleh perawatan ayam yang tidak higienis (Thahir & Abubakar, 2024).

Variabel genetik dan kondisi lingkungan yang ideal, seperti prosedur pemeliharaan, pemberian pakan yang cukup, dan manajemen suhu, semuanya membantu mempercepat pertumbuhan ayam pedaging. Daging ayam pedaging rentan terhadap pembusukan oleh bakteri seperti *Salmonella typhi* karena kandungan protein dan airnya yang tinggi (Zelpina *et al.*, 2018).

Bakteri *Salmonella* sp akan berdampak buruk untuk kesehatan manusia. Penularan *Salmonella* sering terjadi melalui makanan yang tidak higienis, yang seringkali tidak diperhatikan oleh manusia. Oleh karena itu, infeksi *Salmonella* masih menjadi masalah serius. (Diyana, 2021). Tidak boleh ada bakteri *Samonella* sp. dalam bahan makanan asal hewan, menurut SNI No. 01-6366-2000 (Darmawan *et al.*, 2020)

Berdasarkan hasil penelitian (Zairiful *et al.*, 2021), sebanyak 30 sampel daging ayam broiler telah diuji di pasar tradisional dan pasar modern dengan menggunakan metode pemeriksaan standar. Sebanyak 1 sampel daging ayam atau 6,7% dinyatakan positif mengandung *Salmonella*. Namun, tidak ditemukan adanya kontaminasi di pasar tersebut. Penulis mengidentifikasi *Salmonella* dengan menggunakan metode pengujian berdasarkan standar SNI ISO-6579-1-2017 tentang mikrobiologi pangan dan pakan—Metode horizontal.

Penelitian ini berkontribusi dalam mendeteksi adanya kontaminasi *Salmonella* sp., bakteri patogen di daging ayam broiler yang penting untuk diidentifikasi karena *Salmonella* merupakan salah satu penyebab utama penyakit bawaan

makanan (*foodborne diseases*) pada manusia, sehingga penemuan ini membantu meningkatkan kewaspadaan terhadap risiko kesehatan yang ditimbulkan oleh konsumsi daging yang terkontaminasi.

Hasil penelitian ini bisa menjadi bahan pembelajaran untuk masyarakat tentang pentingnya menjaga kebersihan dan keamanan pangan, khususnya dalam proses pembelian dan pengolahan daging ayam, yang diharapkan dapat meningkatkan kesadaran masyarakat terhadap risiko kesehatan akibat *Salmonella*. Selain itu, penelitian ini mungkin juga menyumbang pada pengembangan atau pengujian metodologi baru dalam isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella* sp., di mana metodologi yang akurat dan efisien sangat penting untuk memastikan hasil yang dapat dipercaya serta dapat direplikasi dalam penelitian lainnya.

BAHAN DAN METODE

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Inkubator, Autoclave, Laminar Air Flow, Petri Dish, Tabung Reaksi, Pipet, Ose Diameter, Ose Tusuk, Waterbath, Vortex, Lampu spritus, Mikroskop, Object Glass, Rak Tabung, Botol Scoth, Sendok, Pinset, Alu, Hotplate, Kapas, Handscoon, Timbangan digital, Pisau, Kapas, Masker, Tisu, Erlenmeyer dan Termos es.

Sampel Daging Ayam, Aquadest, Air Pepton Buffer (BPW), Rappaport-Vassiliadis (RVS), kaldu Muller-Kauffmann tetrathionate novobiocin (MKTTh), agar XLD (Xylose Lysine Deoxycholate), HE

(Hektone Enteric), agar Triple Sugar Iron (TSI), agar Urea, MRVP, Agar Simmons Citrate, Air Tryptone, Konvacs Indol, Naphthol, Yodium, Urea, KOH, Metil.

2. Metode Penelitian

Dalam penelitian ini, menggunakan metode SNI ISO 6579-1-2017

3. Prosedur Penelitian

a. Pengambilan Sampel

Timbang daging ayam sebanyak 25gram, *blender* secara aseptis, masukkan wadah steril dan ditambahkan 225 ml larutan BPW kemudian dikocok dalam vortex 2 menit. Inkubasi selama 18 jam $\pm$ 2 jam pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

b. Isolasi dan Identifikasi

Salmonella sp.

- i. Setelah inkubasi 24 jam $\pm$ 3 jam, masukkan 0,1ml kultur sampel ke media RVS broth dan MKTTn lalu yang diinkubasi ke dalam waterbath suhu 43°C selama 24 jam $\pm$ 3 jam
- ii. Kemudian gores menggunakan ose diameter ke dalam media dari RVS dan MKTTn ke media XLD dan HE.
- iii. Balik cawan hingga bagian bawah cawan berada diatas, inkubasi cawan XLD dan HE selama 24 jam pada suhu 37°C .
- iv. Setelah inkubasi selesai, amati koloni hasil goresan dari media HE dan XLD. Koloni *Salmonella* pada media XLD agar adalah Koloni merah jambu (pink) dengan inti hitam, *Salmonella* H_2S negatif varian (*S.Paratyphi* A) tumbuh pada XLD agar adalah pink dengan inti pink gelap. Laktose-positif *Salmonella* tumbuh pada media XLD agar

menjadi berwarna kuning dengan atau tanpa hitam dan HE positif ditandai dengan media berubah warna yang awalnya hijau menjadi biru dan koloni bakteri berwarna hitam pekat.

c. Uji Konfirmasi

- i. Pemilihan Koloni untuk Konfirmasi
- ii. Ambil koloni yang suspect positif dari media diatas dengan menggunakan ose jarum dan inokulasikan ke Nutrient agar.
- iii. Inkubasi selama 24 jam $\pm$ 3 jam pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- iv. Lanjutkan ke uji biokimia dan uji serologi.

d. Uji Biokimia

- i. Goreskan koloni yang suspect positif ke media TSIA. Inkubasi selama 24 jam $\pm$ 3 jam pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Interpretasi perubahan media seperti dibawah ini:
 - 1) Agar tegak
 - 2) Kuning
 - 3) Merah atau tidak berubah
 - 4) Hitam
 - 5) Gelembung atau celah
 - 6) Agar miring
 - 7) Kuning / sukrosa digunakan)
 - 8) Merah atau tidak berubah / sukrosa tidak digunakan)Reaksi spesifik *Salmonella*.sp untuk TSI agar yaitu alkaline (warna merah) pada agar miring dan asam (warna kuning) pada agar tegak dengan terbentuknya gas H_2S . Jika laktosa-positif *Samonella*.sp terisolasi, agar miring TSI berwarna kuning. Oleh sebab itu uji konfirmasi koloni *Salmonella* sp tidak

hanya berdasarkan uji TSI agar saja.

ii. Urea Agar

Ambil biakan murni bakteri pada nutrient agar kemudian goreskan ke Urea agar. Inkubasi selama 24 jam $\pm$ 3 jam pada suhu 37°C $\pm$ 1°C. Reaksi positif jika medium urea melepaskan ammonia dan berubah warna pink.

iii. Reaksi Media MRVP

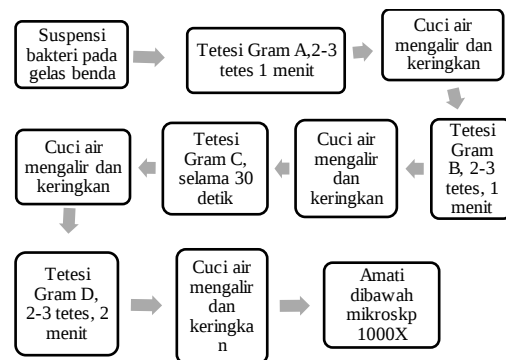
Ambil biakan murni bakteri, inkubasikan ke dalam 3 mL MR dan VP broth inkubasi selama 24 jam $\pm$ 3 jam pada suhu 37°C $\pm$ 1°C. Setelah inkubasi tambahkan 3 tetes reagen VP. Kemudian kocok dan amati hasilnya maksimal 15 menit setelah ditambahkan reagen VP. Pembentukan warna merah dalam waktu 15 menit mengindikasikan reaksi positif.

iv. Reaksi media Indol

Inokulasikan tabung berisi 5 mL Tryptophane Broth yang berisi biakan murni *Salmonella.sp.* Inkubasi selama 24 jam $\pm$ 3 jam pada suhu 37°C $\pm$ 1°C. Setelah inkubasi tambahkan reagen kovac. Pembentukan cincin merah mengindikasikan reaksi positif. Cincin kuning berarti reaksi negatif.

e. Pewarnaan Gram

Morfologi sel bakteri diamati melalui pewarnaan gram. Sebelum dilakukan pewarnaan gram dilakukan fiksasi terhadap bakteri. Alur pewarnaan gram sebagai berikut:



Gambar 1:

Alur Pewarnaan Gram

f. Analisis Data

Hasil observasi dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan ilustrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini melibatkan empat pasar di Kabupaten X, dengan pengambilan sampel dilakukan secara terstruktur berdasarkan lokasi penjualan daging ayam broiler di dalam dan luar pasar. Berikut adalah hasil pengamatan berdasarkan kode pasar dan lokasi pengambilan sampel:

a. Pasar Kode A.

Di Pasar A, diambil enam sampel, terdiri dari tiga sampel (A1-A3) dari pedagang yang berjualan di luar pasar dan tiga sampel (A4-A6) dari pedagang di dalam pasar.

i. Pedagang di luar pasar (A1-A3): Lingkungan jualan kurang memperhatikan sanitasi, tidak tersedia aliran air bersih, dan banyak lalat menghinggapi ayam yang dijual.

ii. Pedagang di dalam pasar (A4-A6): Kondisi sanitasi lebih baik, tersedia aliran air bersih, dan jarang ditemukan lalat menghinggapi ayam.

b. Pasar Kode B.

Di Pasar B, enam sampel diambil, dengan pembagian tiga sampel (B1-B3) dari pedagang di dalam pasar dan tiga sampel (B4-B6) dari pedagang di luar pasar.

i. Pedagang di dalam pasar (B1-B3):

- 1) B1: Lokasi berdekatan dengan tempat pembuangan sampah, sehingga banyak lalat menghinggapi ayam.
- 2) B2-B3: Berada di area yang lebih bersih, tersedia aliran air bersih, dan jarang ditemukan lalat.

ii. Pedagang di luar pasar (B4-B6): Lingkungan cukup bersih, tersedia aliran air bersih, dan jumlah lalat yang menghinggapi ayam relatif sedikit.

c. Pasar Kode C.

Di Pasar C, empat sampel (C1-C4) diambil dari pedagang di dalam pasar dan dua sampel dari pedagang di luar pasar.

i. Pedagang di dalam pasar (C1-C4): Kondisi sanitasi baik, terdapat aliran air bersih, pedagang menjaga kebersihan lingkungan, dan jarang ditemukan lalat.

ii. Pedagang di luar pasar (C5-C6): Kondisi kebersihan kurang terjaga, namun beberapa pedagang menyebutkan adanya pengawasan rutin dari Dinas Kesehatan setiap tiga bulan.

d. Pasar Kode D.

Di Pasar D, enam sampel diambil, terdiri dari tiga sampel (D1-D3) dari pedagang di dalam pasar dan

tiga sampel (D4-D6) dari pedagang di luar pasar.

i. Pedagang di dalam pasar (D1-D3):

- 1) Semua pedagang memiliki akses ke aliran air bersih dan memperhatikan sanitasi area jualan.
- 2) D1: Menjual dalam jumlah kecil (4 ekor per hari) dan tidak dihinggapi lalat.
- 3) D2-D3: Menjual dalam jumlah lebih banyak dan terdapat beberapa lalat yang menghinggapi ayam.

ii. Pedagang di luar pasar (D4-D6):

- 1) Lokasi penjual berjauhan, tidak tersedia aliran air bersih, dan banyak lalat hijau menghinggapi ayam yang dijual.
- 2) Sanitasi lingkungan dan ketersediaan air bersih sangat memengaruhi jumlah lalat yang menghinggapi ayam broiler. Pedagang yang berjualan di dalam pasar cenderung memiliki kondisi kebersihan yang lebih baik dibandingkan pedagang di luar pasar, terutama di pasar dengan pengawasan sanitasi yang rutin.

Salmonella sp. adalah bakteri patogen yang dapat menyebabkan keracunan pangan. Proses pengujian diawali dengan tahap *pre-enrichment* menggunakan *Buffer Peptone Water* (BPW) (Annisa *et al.*, 2020).

BPW berfungsi sebagai media pengencer sekaligus kaldu pengaya nutrisi, yang dirancang untuk menghidupkan kembali bakteri yang mungkin berada dalam kondisi stres,

sehingga dapat mengurangi tingkat kematian sel bakteri (Febrina, 2022).

Proses dilanjutkan ke tahap pengayaan (*enrichment*), yang bertujuan untuk menekan pertumbuhan bakteri kompetitor agar *Salmonella* sp dapat tumbuh secara optimal. Media pengayaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah RVS dan MKTTn). Pada tahap pengayaan, sebanyak 0,1 ml kultur dari hasil inkubasi dipipet dan diinokulasikan ke dalam 10 ml media RVS dan MKTTn (Nofrianti *et al.*, 2022).

Langkah selanjutnya adalah isolasi, yaitu menginokulasi sampel yang diduga mengandung positif *Salmonella* sp. , dari media pengayaan ke media selektif. Tujuan dari fase ini adalah untuk memisahkan bakteri target dari mikroorganisme lain. Media selektif yang digunakan adalah agar XLD dan HE. Media XLD mengandung natrium deoksikolat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Selain itu, media ini mengandung tiosulfat sebagai indikator produksi hidrogen sulfida (H_2S) yang ditunjukkan dengan terbentuknya koloni berwarna hitam pada media, dan media HE memiliki komposisi lengkap yang mendukung pertumbuhan bakteri gram negatif.

Komponen media ini antara lain sumber karbon, nitrogen, asam amino, vitamin (termasuk golongan B dari ekstrak ragi), serta karbohidrat yang dapat difermentasi seperti laktosa, sukrosa dan salisin. Garam empedu dan asam fuchsinic digunakan untuk menghambat bakteri gram positif. Natrium klorida menjaga keseimbangan osmotik, sedangkan amonium besi sitrat dan

natrium tiosulfat memungkinkan deteksi produksi H_2S . Bromothymol blue dan asam fuchsinic digunakan sebagai indikator pH, sedangkan agar bertindak sebagai solidifier. Koloni yang diduga positif *Salmonella* sp. ditemukan 7 sampel yang positif dari pada 24 sampel yang dianalisis. pada media HE dan XLD dengan kode contoh A1, B1, D2, D3, D4, D5 dan D6

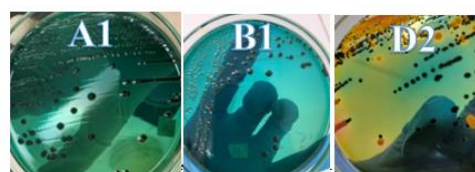
Hasil isolasi pada media XLD dan HE menunjukkan koloni dengan karakteristik khas berupa warna hitam dengan kilap logam. Sampel yang terduga positif dilanjutkan di uji biokimia dan pewarnaan gram. Penelitian ini menggunakan uji Biokimia yang terdiri dari Indol, MR, VP, SCA, TSIA, dan Urea (Indriyani *et al.*, 2019).

Tabel 1:

Pengamatan morfologi *Salmonella* sp. yang tumbuh pada media HE

No	Kode Sampel	Bentuk	Ukuran	Pigmentasi	Permukaan	Tepi	Elevasi	Aspek Koloni
1	A1	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
2	A2	-	-	-	-	-	-	-
3	A3	-	-	-	-	-	-	-
4	A4	-	-	-	-	-	-	-
5	A5	-	-	-	-	-	-	-
6	A6	-	-	-	-	-	-	-
7	B1	Bulat	2 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
8	B2	-	-	-	-	-	-	-
9	B3	-	-	-	-	-	-	-
10	B4	-	-	-	-	-	-	-
11	B5	-	-	-	-	-	-	-
12	B6	-	-	-	-	-	-	-
13	C1	-	-	-	-	-	-	-
14	C2	-	-	-	-	-	-	-
15	C3	-	-	-	-	-	-	-
16	C4	-	-	-	-	-	-	-
17	C5	-	-	-	-	-	-	-
18	C6	-	-	-	-	-	-	-
19	D1	-	-	-	-	-	-	-
20	D2	Bulat	1.5 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
21	D3	Bulat	2 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
22	D4	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
23	D5	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
24	D6	Bulat	1.5 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap

Keterangan: A (Pasar 1), B (Pasar 2), C (Pasar 3), D (Pasar 4)



Gambar 2:

Koloni *Salmonella* sp pada media HE

Tabel 2:
Pengamatan morfologi *Salmonella* sp. yang tumbuh pada media XLD

No	Kode Sampel	Bentuk	Ukuran	Pigmentasi	Permukaan	Tepi	Elevasi	Aspek Koloni
1	A1	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
2	A2	-	-	-	-	-	-	-
3	A3	-	-	-	-	-	-	-
4	A4	-	-	-	-	-	-	-
5	A5	-	-	-	-	-	-	-
6	A6	-	-	-	-	-	-	-
7	B1	Bulat	1.5 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
8	B2	-	-	-	-	-	-	-
9	B3	-	-	-	-	-	-	-
10	B4	-	-	-	-	-	-	-
11	B5	-	-	-	-	-	-	-
12	B6	-	-	-	-	-	-	-
13	C1	-	-	-	-	-	-	-
14	C2	-	-	-	-	-	-	-
15	C3	-	-	-	-	-	-	-
16	C4	-	-	-	-	-	-	-
17	C5	-	-	-	-	-	-	-
18	C6	-	-	-	-	-	-	-
19	D1	-	-	-	-	-	-	-
20	D2	Bulat	1 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
21	D3	Bulat	2 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
22	D4	Bulat	2 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
23	D5	Bulat	2 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap
24	D6	Bulat	1.5 mm	Hitam	Halus	Rata	Cembung	Mengkilap



Gambar 3:
Koloni *Salmonella* sp pada media XLD

Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA) menilai kemampuan bakteri untuk memfermentasi glukosa, laktosa, dan menghasilkan gas H₂S. TSIA mengandung tiga bentuk gula: glukosa, sukrosa, dan laktosa. *Salmonella* dalam TSIA menyebabkan bagian miring berubah menjadi merah, sedangkan bagian bawah menjadi kuning dan melepaskan H₂S, yang bergabung dengan ferrous sulfate (III), menghasilkan presipitasi hitam dari ferric sulfide FeS (II) di bagian bawah (Merck, 2020).

Dari 24 sampel yang dievaluasi, hasil positif diperoleh untuk kode sampel A1, B1, D2, D3, D4, D5, dan D6. Hasil uji TSIA menunjukkan bahwa 7 sampel menghasilkan H₂S dan besi sulfida (Khair, 2021). Hal ini sesuai dengan penelitian

sebelumnya (Maritsa *et al.*, 2018), yang menemukan bahwa reaksi unik *Salmonella* sp. adalah adanya rona merah-hitam. Sedimen terbentuk sebagai akibat oksidasi asam oleh udara pada agar miring dan pemecahan protein.

Uji *Methyl Red* (MR) dilakukan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri dalam mengukur produksi asam kuat (seperti asam laktat, asam asetat, dan asam format) dari fermentasi glukosa oleh mikroorganisme. Jika bakteri mampu memfermentasi glukosa menjadi asam dalam jumlah signifikan, pH medium akan turun di bawah 4,4, dan indikator methyl red akan berubah menjadi warna merah, warna merah menunjukkan hasil positif, sedangkan warna kuning menandakan hasil negatif (M024, 2022).

Dari 24 sampel yang diuji, kode sampel A1, B1, D2, D3, D4, D5, dan D6 menghasilkan hasil positif, sebagaimana ditunjukkan oleh perubahan warna indikator menjadi merah, sedangkan kuning menunjukkan hasil negatif. Hal ini konsisten dengan penelitian sebelumnya (Rima *et al.*, 2017), yang menemukan bahwa semua isolat sampel teruji positif terhadap Metil. Penyebaran warna merah pada media menyiratkan (MR). Secara umum, *Salmonella* sp. memberikan hasil positif dalam uji MR.

Uji *Voges-Proskauer* (VP) mengevaluasi kemampuan mikroorganisme untuk mengubah produk asam menjadi aseton dan 2,3-butanediol. Hasil yang baik dengan reagen α -naftol dan KOH 40% adalah munculnya warna kuning pada media (Min, 2021).

Hasil uji VP Kode sampel A1, B1, D2, D3, D4, D5, dan D6 menghasilkan hasil negatif dari 24 sampel yang diuji. Hal ini konsisten dengan penelitian sebelumnya (Rima *et al.*, 2017), yang menemukan bahwa semua isolat sampel mengembalikan hasil negatif. *Salmonella* sp. biasanya menghasilkan temuan negatif dalam uji VP, tanpa perubahan warna dalam media. Hasil positif menunjukkan perubahan warna dari merah muda menjadi merah delima.

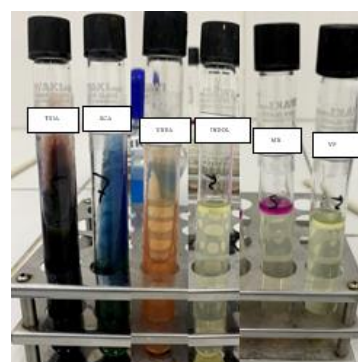
Uji Simmons Citrate Agar membedakan famili Enterobacteriaceae dari kelompok Aerogenes berdasarkan penggunaan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Adanya indikator bromthymol blue menyebabkan media menjadi biru, yang menunjukkan hasil positif uji Simmons Citrate (Conda, 2021). Dalam penelitian ini, analisis terhadap 24 sampel menunjukkan bahwa sampel dengan kode A1, B1, D2, D3, D4, D5, dan D6 memiliki hasil yang baik, yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Temuan ini sesuai dengan pernyataan (Ratnaningtyas *et al.*, 2023) yang menemukan bahwa bakteri *Salmonella* memiliki reaksi positif.

Media yang tidak berubah warna (hasil negatif) menunjukkan bahwa bakteri tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber energi. Perubahan warna pada media dari hijau toska menjadi biru cerah menunjukkan hasil yang baik dalam pengujian ini.

Tabel 3:

Hasil uji biokimia bakteri *Salmonella* sp.

No.	Kode Sampel	Jenis Uji						Hasil
		Indol	MR	VP	SCA	TSIA	UREA	
1	A1	-	+	-	+	B/H2S	-	+
2	A2	-	-	-	-	Merah	-	-
3	A3	-	-	-	-	Merah	-	-
4	A4	-	-	-	-	Merah	-	-
5	A5	-	-	-	-	Merah	-	-
6	A6	-	-	-	-	Merah	-	-
7	B1	-	+	-	+	B/H2S	-	+
8	B2	-	-	-	-	Merah	-	-
9	B3	-	-	-	-	Merah	-	-
10	B4	-	-	-	-	Merah	-	-
11	B5	-	-	-	-	Merah	-	-
12	B6	-	-	-	-	Merah	-	-
13	C1	-	-	-	-	Merah	-	-
14	C2	-	-	-	-	Merah	-	-
15	C3	-	-	-	-	Merah	-	-
16	C4	-	-	-	-	Merah	-	-
17	C5	-	-	-	-	Merah	-	-
18	C6	-	-	-	-	Merah	-	-
19	D1	-	-	-	-	Merah	-	-
20	D2	-	+	-	+	B/H2S	-	+
21	D3	-	+	-	+	B/H2S	-	+
22	D4	-	+	-	+	B/H2S	-	+
23	D5	-	+	-	+	B/H2S	-	+
24	D6	-	+	-	+	B/H2S	-	+



Gambar 4:

Hasil positif kultur *Salmonella* sp. pada uji biokimia TSIA, SCA, Urea, Indol, MR, dan VP, menunjukkan karakteristik spesifik *Salmonella* sp.

Pewarnaan Gram dilakukan dengan mengisolasi koloni dari media selektif. Tujuh dari 24 sampel ayam pedaging yang dianalisis menghasilkan hasil mikroskopis berupa bakteri berbentuk batang panjang berwarna merah muda. Hal ini sesuai dengan interpretasi hasil pewarnaan Gram, di mana bakteri berbentuk batang berwarna merah menunjukkan hasil positif (+) dan ketidakhadirannya menunjukkan hasil negatif (-).

Pewarnaan Gram adalah teknik pewarnaan diferensial yang mengklasifikasikan bakteri berdasarkan perubahan struktur dinding selnya. Pewarna utama, mordan, penghilang warna, dan pewarna tandingan digunakan untuk membedakan antara mikroorganisme Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif mempertahankan warna ungu karena dinding selnya tebal, tetapi bakteri Gram negatif tampak merah muda karena dinding selnya tipis dan ketidakmampuan mempertahankan pewarna primer setelah penghilangan warna (Atmanto *et al.*, 2022).

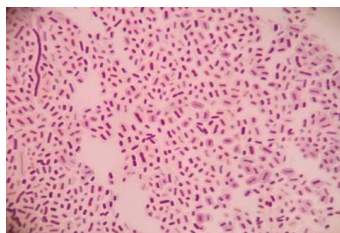
Prosedur pewarnaan Gram dimulai dengan penggunaan kristal violet sebagai pewarna utama, yang memberikan warna ungu pada semua sel bakteri. Selanjutnya, ditambahkan larutan iodine sebagai mordant untuk memperkuat ikatan antara pewarna dan dinding sel bakteri, sehingga pewarna lebih stabil menempel pada sel. Setelah itu, dilakukan proses dekolorisasi menggunakan etanol 95%, di mana bakteri Gram positif mampu mempertahankan kompleks kristal violet-iodine, sedangkan bakteri Gram negatif kehilangan warna utamanya. Langkah terakhir adalah pemberian pewarna tandingan berupa safranin, yang menghasilkan warna merah muda pada bakteri Gram negatif yang telah kehilangan warna awalnya, tanpa memengaruhi warna ungu pada bakteri Gram positif. Dengan demikian, hasil akhir pewarnaan Gram menunjukkan bakteri Gram positif berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah muda (Amin *et al.*, 2023).

Pewarnaan Gram menghasilkan variasi warna karena adanya variasi dalam struktur dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan tebal yang mengandung asam teikoat, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis tanpa kandungan asam teikoat tetapi membran luarnya terbuat dari lipopolisakarida. Pada bakteri Gram positif, interaksi kristal violet dan iodine menghasilkan kompleks kuat yang sulit dihilangkan menggunakan larutan penghilang warna. Pada bakteri Gram negatif, membran luar yang mengandung lipopolisakarida tidak membentuk kombinasi kuat dengan kristal violet dan iodine, oleh karena itu larutan penghilang warna melarutkan lipid di membran luar, melepaskan pewarna ungu. Proses counterstaining dengan safranin memberikan warna merah muda pada bakteri Gram negatif, sedangkan bakteri Gram positif tetap berwarna ungu akibat pewarna kristal violet yang tertahan.

Tabel 4:

Hasil pewarnaan gram bakteri
Salmonella sp.

No	Kode Sampel	Bentuk	Warna	Kelompok Gram
1	A1	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
2	A2	-	-	-
3	A3	-	-	-
4	A4	-	-	-
5	A5	-	-	-
6	A6	-	-	-
7	B1	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
8	B2	-	-	-
9	B3	-	-	-
10	B4	-	-	-
11	B5	-	-	-
12	B6	-	-	-
13	C1	-	-	-
14	C2	-	-	-
15	C3	-	-	-
16	C4	-	-	-
17	C5	-	-	-
18	C6	-	-	-
19	D1	-	-	-
20	D2	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
21	D3	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
22	D4	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
23	D5	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif
24	D6	Batang Panjang	Merah Muda	Negatif



Gambar 4:
Hasil Pewarnaan Gram bakteri
positif *Salmonella* sp.

Dari isolasi 24 sampel broiler di pasar tradisional Kabupaten X, ditemukan 7 sampel positif *Salmonella* sp. Hasil positif ini ditentukan melalui morfologi koloni pada media XLD dan HE berupa koloni berwarna hitam (*black center*), yang dikonfirmasi dengan pewarnaan Gram sebagai bakteri Gram negatif berbentuk batang panjang berwarna merah muda, serta uji biokimia yang menunjukkan indol negatif, MR positif, VP negatif, TSIA positif, SCA positif, dan urea negatif, sesuai karakteristik *Salmonella* sp.

KESIMPULAN

Dengan menggunakan metode SNI ISO 6579-1-2017, penelitian ini berhasil mengidentifikasi *Salmonella* sp. pada 7 dari 24 sampel daging ayam broiler yang dikumpulkan dari pasar tradisional di Kabupaten X. Prosedur identifikasi meliputi prapengayaan, pengayaan, isolasi, pewarnaan Gram, dan uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bakteri berbentuk batang Gram negatif dengan koloni hitam khas pada media XLD dan HE. Uji biokimia mengidentifikasi *Salmonella* sp. memiliki indole negatif, MR positif, VP negatif, TSIA positif dengan pembentukan H₂S, SCA positif, dan kadar urea negatif.

Temuan ini menunjukkan kemungkinan adanya kontaminasi *Salmonella* sp. pada daging ayam pedaging di pasar tradisional, yang dapat menyebabkan penyakit akibat makanan. Pendekatan SNI ISO 6579-1-2017 terbukti efektif dalam mengidentifikasi keberadaan mikroorganisme ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, S. S., Ghozali, Z., Rusdiana, M., & Efendi, S. (2023). Identifikasi Bakteri dari Telapak Tangan dengan Pewarnaan Gram Identification of Bacteria from Palms with Gram Stain. *CHEMVIRO: Jurnal Kimiadan Ilmu Lingkungan*, 1(1), 30–35. <https://doi.org/10.56071/chemviro.v1i1.563>
- Andari1, S., & Devita Yudhayanti. (2022). Isolasi Dan Identifikasi *Salmonella* Sp Pada Daging Ayam Segar Yang Dijual Di Pasar Legi Ponorogo. *Zootec*, 37(2), 276. <https://doi.org/10.35792/zot.37.2.2017.16066>
- Annisa, U. A., Sudarwanto, M. B., Soviana, S., & Pisestyani, H. (2020). Keberadaan *Salmonella* Sp. Pada Susu Olahan Asal Kedai Susu Di Sekitar Permukiman Mahasiswa Institut Pertanian Bogor. *Jurnal Kajian Veteriner*, 8(1), 34–42. <https://doi.org/10.35508/jkv.v8i1.2229>
- Atmanto, Y. K. A. A., Asri, L. A., & Kadir, N. A. (2022). Media Pertumbuhan Kuman. *Jurnal Medika Hutama*, 04(01), 3069–3075.

- <http://jurnalmedikahutama.com>
- Conda, L. (n.d.). *Simmons Citrate Agar Iso 10273*. 1–2.
- Darmawan, A., Muslimin, L., Arifah, S., & Mahatmi, H. (2020). Kontaminasi *Salmonella* spp pada Daging Ayam Broiler yang dijual di beberapa Pasar Tradisional di Makassar. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(2), 168–176. <https://doi.org/10.19087/imv.2020.9.2.168>
- Diyana, U. (2021). Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner (JIMVET). Perbandingan Infeksi *Salmonella* sp. Pada Ayam Kampung Dan Broiler Yang Di Potong Di Pasar Lambaro Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner (JIMVET)*, 5(2), 93–99. <http://jim.unsyiah.ac.id/FKH/article/view/16655>
- Febrina, M. (2022). Optimasi Pepton Water Sebagai Sumber Karbon Untuk Produksi Senyawa Antibakteri Oleh Bakteri Endofit Tumbuhan Andalas (*Morus Macroura* Miq.) Isolat B.J.T.A.2.1. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 1(2), 1656–1665. <https://semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id/index.php/prosiding/article/view/213/149>
- HiMedia Labortories. (2015). Tryptone Water. *Products*, 479. <http://himedialabs.com/TD/M463I.pdf>
- Indriyani, D. P., Tyasningsih, W., & Praja, R. N. (2019). Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat in Banyuwangi Abattoir. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 83–88. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.83-88>
- Jannah, D. R. (2022). Preferensi konsumen terhadap karkas ayam broiler segar dan beku di kecamatan Tenggarong. *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 5(1), 28. <https://doi.org/10.30872/jpltrop.v5i1.7422>
- Khair, F. R. (2021). *Isolasi dan Identifikasi Salmonella spp . pada Kloaka Kura-Kura Ambon (Cuora amboinensis)*. 9(3), 163–172.
- M024. (2007). Technical Data Technical Data. *Pnas*, 1(2), 38–40.
- Maritsa, H. U., Aini, F., Saputra, A., Nurhakim, D. S., & Sihombing, G. M. (2018). Isolasi dan Identifikasi Cemarkan Bakteri *Salmonella* sp. pada Daging Ayam dan Ikan Mentah. *BIOSITE | BIOLOGI Sains Terapan*, 3(2), 61–64. <https://doi.org/10.22437/bs.v3i2.4427>
- Merck. (2010). Triple Sugar Iron Agar (TSIA). *Acumedia A Subsidiary of Neogen Corporation*, November, 2–4.
- Min, T. (2021). *MR-VP Medium Industry : Clinical Microbiological test*. 4, 1–2.
- Nofrianti, F. F., Novita, A., Jamin, F., Ismail, Farida, & Eka Sari,

- W. (2022). Deteksi Cemarkan *Salmonella* sp. pada Bakso Bakar yang di Jual di Kopelma Darussalam Banda Aceh. *Detection of Salmonella Sp. Contamination in Grilled Meatballs Sold in Kopelma Darussalam Banda Aceh. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner (JIMVET) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala*, 6(3), 162–168.
- Ramadani, A., Rahayu, Y. P., Nasution, M. P., & Yuniarti, R. (2023). Analisis cemarkan bakteri *Staphylococcus aureus* pada daging ayam krispy pinggir jalan dan fast food di daerah Teladan kota Medan. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(3), 1265–1272. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i3.205>
- Ratnaningtyas, S., Wahyudi, D., Wulansari, D., & Utami, W. P. (2023). Deteksi Cemarkan *Salmonella* Sp. Pada Komoditas Tuna, Tongkol Dan Cakalang (Ttc) Yang Dijual Di Pasar Inpres Di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Klorofil*, 7(1), 2023.
- Rima, R. A., Darniati, & Ismail. (2017). *Isolation and Identification of Salmonella sp in Roasted Chicken From Restaurant in Syiah Kuala, Banda Aceh. Jimvet*, 01(3), 265–274.
- Salmonella, K., Pada, S. P., Ayam, D., Ayam, B., Dijual, Y., & Lingkar, D. I. (2018). *Institut Pertanian Bogor Dramaga Bogor*. 73–79.
- Thahir, S., & Abubakar, N. (2024). Identifikasi *Salmonella* SP Pada Telur Ayam Kampung Di Pasar BTN Hartaco Indah Makassar. *Cakra Jurnal Penelitian Mahasiswa*, 1(1), 1–13.
- Zairiful, Z., Sukaryana, Y., & Maghfiroh, K. (2021). Kajian Cemarkan *Salmonella* spp pada Daging Ayam Broiler di Pasar Tradisional dan Modern Kota Bandar Lampung. *PETERPAN (Jurnal Peternakan Terapan)*, 3(1), 1–4. <https://doi.org/10.25181/peterpan.v3i1.1922>