

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Kontaminan pada Usus Ayam (*Gallus domesticus*) yang telah Diolah dengan Proses Marinasi dan Tumis

*Isolation and Identification of Contaminant Bacteria in Chicken (*Gallus domesticus*) Intestines Processed by Marination and Sauteing Process*

Adik Sandia Santosa Asmali¹, Adi Imam Cahyadi^{2,3}, Tyagita Hartady^{1,3*}

¹Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

²Departemen Ilmu Kedokteran Dasar, Divisi Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

³Departemen Ilmu Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

*Corresponding author, Email: tyagita@unpad.ac.id

Naskah diterima: 12 Desember 2023, direvisi: 11 Januari 2024, disetujui: 13 Januari 2025

Abstract

Contaminant bacteria are bacteria that can contaminate food, causing Microbial Food-Borne Disease (FBD) in human. The contamination of food can be prevented by marination and sauteing process. However, processed food that had been stored for a long time has high risk of re-contamination from the environment. This study aims to determine the effect of marination, sauteing process, and storage time on the presence of contaminant bacteria in chicken intestines. Four groups of chicken intestines (raw, marinated, marinated and sauteed with 1 and 6 hour of storage time) prepared from three different traditional markets. Each group of chicken intestines then cultured in MacConkey Agar (MCA) for quantification and also isolated then identified through culture in Salmonella-Shigella Agar (SSA) and Xylose-Lysine Deoxycholate Agar (XLDA), gram staining, and biochemical tests. The bacteria quantification shows the number of bacteria in raw chicken intestine group from 3 different traditional markets are 21, 16,7, dan 24,8 $\times 10^6$ CFU, and the number of bacteria in marinated chicken intestine group are 0,79, 1,96, dan 9,30 $\times 10^6$ CFU. The result shows that marination process can decrease bacteria in chicken intestines by the average of 81,42%, while storage time can cause re-contamination in chicken intestines with the number of bacteria are 16, 18,2, dan 22,1 $\times 10^6$ CFU. The isolation and identification result shows that bacteria responsible for the contamination of raw chicken intestine was *Proteus mirabilis* possibly from chicken intestines washed with water that had been contaminated by *Proteus* sp.

Keywords: bacteria; chicken intestines; contamination; marination and sauteing

Abstrak

Bakteri kontaminan merupakan bakteri yang dapat mengontaminasi bahan pangan dan menyebabkan Microbial Food-Borne Disease (FBD) pada manusia. Adanya kontaminasi bakteri pada bahan pangan dapat dicegah melalui proses marinasi dan penumisan bahan pangan. Namun demikian, bahan pangan yang telah diproses dan disimpan dalam waktu terlalu lama memiliki risiko kontaminasi kembali dari lingkungan. Tujuan penelitian ini yaitu untuk melihat pengaruh proses marinasi dan penumisan serta lama penyimpanan terhadap bakteri kontaminan yang berada di usus ayam. Sebanyak empat kelompok sampel usus ayam (mentah, marinasi, marinasi lalu penumisan dengan lama penyimpanan 1 jam dan 6 jam) disiapkan dari tiga lokasi pasar yang berbeda. Setiap kelompok sampel kemudian dilakukan penanaman pada media MacConkey Agar (MCA) untuk dihitung jumlah koloninya serta dilakukan isolasi dan identifikasi melalui pewarnaan gram, penanaman pada media Salmonella-Shigella Agar (SSA) dan Xylose-Lysine Deoxycholate Agar (XLDA), serta melalui uji biokimia. Hasil perhitungan bakteri menunjukkan jumlah bakteri pada usus ayam mentah dari 3 lokasi pasar sebesar 21, 16,7, dan 24,8 $\times 10^6$ CFU serta pada usus ayam marinasi sebesar 0,79, 1,96, dan 9,30 $\times 10^6$ CFU.

Hal tersebut menunjukkan bahwa proses marinasi dapat menurunkan jumlah bakteri pada usus ayam rata-rata sebesar 81,42%, sedangkan lama penyimpanan menyebabkan usus ayam terkontaminasi kembali, dengan jumlah bakteri yaitu 16, 18,2, dan $22,1 \times 10^6$ CFU. Hasil isolasi dan identifikasi menunjukkan bahwa bakteri yang mengontaminasi usus ayam mentah merupakan bakteri *Proteus mirabilis* yang kemungkinan berasal dari usus ayam yang dicuci menggunakan air yang sudah terkontaminasi bakteri tersebut.

Kata kunci: bakteri; kontaminasi; marinasi dan penumisan; usus ayam

Pendahuluan

Kebutuhan manusia akan berbagai zat gizi perlu dipenuhi agar kesehatan dan keberlangsungan hidup tetap terjaga. Salah satu zat gizi tersebut adalah protein. Protein dapat diperoleh salah satunya dari sumber hewani, contohnya ayam (*Gallus domesticus*). Bahan pangan yang dapat diperoleh dari ayam tidak terbatas pada daging ayam saja. Terdapat berbagai bahan pangan lain yang tidak kalah populer dibandingkan dengan daging ayam, mulai dari telur, kulit, hingga jeroan dari ayam itu sendiri. Salah satu jeroan yang paling sering dijadikan bahan konsumsi oleh masyarakat yaitu usus yang memiliki kandungan gizi protein sebanyak 45,2 gram, lemak sebanyak 26,3 gram, dan karbohidrat sebanyak 13,9 gram berdasarkan data Kemenkes RI pada Tabel Komposisi Pangan Indonesia (TKPI, 2019).

Usus ayam yang merupakan salah satu bahan pangan asal ayam dapat terkontaminasi oleh bakteri-bakteri penyebab penyakit pada manusia, seperti *E. coli*, *Salmonella*, dan *Campylobacter* (CDC, 2022). Bakteri-bakteri tersebut merupakan bakteri yang dapat menyebabkan keracunan makanan pada manusia dan beberapa termasuk penyakit yang memerlukan prioritas untuk dikendalikan dan ditanggulangi berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 237/KPTS/PK.400/M/3/2019. Usus ayam yang akan dimanfaatkan sebagai bahan pangan perlu perlakuan dan pengolahan yang khusus karena usus ayam merupakan salah satu organ pencernaan dengan tingkat bakteri yang tinggi di dalamnya (Putra & Ismanto, 2022), sehingga tingkat kemungkinan kontaminasinya pun tidak kalah tinggi. Tingkat kontaminasi tersebut dapat diminimalisir dengan cara pengolahan usus ayam yang baik dan benar.

Terdapat berbagai proses pengolahan usus ayam yang sering dilakukan oleh masyarakat

dan yang paling sering dijumpai yaitu pengolahan usus ayam mentah menjadi tumis usus ayam bumbu kuning yang sebelumnya telah dimarinasi. Melalui proses preparasi berupa marinasi, jumlah bakteri pada bahan pangan dapat dikurangi. Meneses & Teixeira (2022) menjelaskan bahwa selain membantu meningkatkan keempukan bahan pangan, marinasi juga dapat mengurangi tingkat konsentrasi bakteri pada bahan pangan. Selain itu, proses penumisan juga dapat mengeliminasi bakteri pada bahan pangan. Diperlukan suhu pemasakan setinggi 150 °F atau lebih dari 65 °C dan durasi setidaknya selama 12 menit untuk mengurangi jumlah bakteri yang ada di makanan (Rahayu & Hanifa, 2017).

Titik kritis lainnya yang dapat menyebabkan bahan pangan terkontaminasi yaitu durasi penyimpanan bahan pangan setelah proses pemasakan. Makanan yang didiamkan selama lebih dari 5 jam sudah tidak layak dikonsumsi (Rumini, 2021). Berdasarkan hal tersebut, penting dilakukannya penelitian ini agar dapat mengetahui pengaruh proses marinasi dan tumis serta lama proses penyimpanan bahan pangan setelah proses pemasakan terhadap tingkat kontaminasi bakteri pada usus ayam.

Materi dan Metode

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus – November 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Prosedur penelitian merujuk pada Standar Nasional Indonesia (SNI) 2897 : 2008 tentang “Metode Pengujian Cemar Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu, serta Hasil Olahannya” dan dilakukan beberapa penyesuaian serta modifikasi.

Pengambilan Sampel Usus Ayam

Sampel usus ayam mentah diambil dari 1 pedagang usus ayam di Pasar Ciwastra (Pasar I),

Pasar Rancabolang Sumberhurip (Pasar II), dan Pasar Kordon (Pasar III) sebanyak 1 potong.

Marinasi Usus Ayam

Sampel usus ayam mentah yang sudah diambil kemudian dipisahkan menjadi 4 kelompok sampel, yaitu sampel usus ayam mentah (Me), sampel usus ayam yang dilakukan proses marinasi (Ma), sampel usus ayam marinasi dan ditumis lalu didiamkan selama 1 jam (T1J) serta 6 jam. (T6J). Marinasi dilakukan dengan menambahkan bawang putih, bawang merah, dan kunyit yang sudah dihaluskan selama 1 jam di suhu ruangan (Yang *et al.*, 2013; Sengun & Karpinar, 2004). Setelah itu, sampel usus ayam yang telah dilakukan proses marinasi akan ditempatkan di wadah steril sebelum dilakukan proses pra-pengayaan dan pengayaan.

Penumisan Usus Ayam

Kelompok sampel usus ayam T1J dan T6J yang sudah dilakukan marinasi terlebih dahulu selanjutnya disiapkan untuk dilakukan proses penumisan. Penumisan dilakukan menggunakan kompor gas, wajan penggorengan, dan minyak goreng sebanyak 10 mL (Adelina *et al.*, 2013) dengan suhu 65 °C selama 12 menit (Rahayu & Hanifa, 2017). Setelah itu, sampel usus ayam yang telah dilakukan proses penumisan akan ditempatkan di wadah steril dan ditutupi oleh kasa steril selama 1 jam (untuk kelompok sampel T1J) dan 6 jam (untuk kelompok sampel T6J) pada suhu ruangan sebelum dilakukan proses pra-pengayaan dan pengayaan.

Pra-pengayaan

Sampel usus ayam mentah dan yang sudah diolah dihaluskan menggunakan *scalpel blade*. Selanjutnya, *Lactose Broth* (LB) ditambahkan pada sampel dan dihomogenkan menggunakan vortex selama 1-2 menit lalu dipindahkan ke tabung reaksi dan diinkubasi menggunakan inkubator dengan suhu 35 °C selama 24 jam ± 2 jam (SNI 2897 : 2008).

Pengayaan

Sampel yang sudah dilakukan proses pra-pengayaan kemudian diaduk perlahan dan diambil sebanyak 1 mL lalu dipindahkan

ke dalam media *Tetrathionate Broth* (TTB). Selanjutnya, menurut SNI 2897 : 2008, sampel diinkubasi menggunakan inkubator dengan suhu 35 °C ± 0,2 °C selama 24 jam ± 2 jam.

Perhitungan *Total Plate Count* (TPC) Metode *Pour Plate*

Sampel usus ayam mentah dan yang telah diolah dihaluskan menggunakan *scalpel blade* lalu ditambahkan *Buffered Peptone Water* (BPW). Selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex selama 1-2 menit (pengenceran 10-1). Setelah itu, suspensi pengenceran 10-1 dipindahkan ke dalam larutan BPW (pengenceran 10-2). Pengenceran terus dilakukan hingga mencapai pengenceran 10-6. Selanjutnya, suspensi dimasukkan ke dalam cawan petri lalu ditambahkan *MacConkey Agar* (MCA) yang sudah didinginkan hingga temperatur 45°C ± 1 °C dan diaduk dengan cara memutar membentuk angka 8 lalu didiamkan hingga padat. Setelah itu, inkubasi dengan suhu 34-36 °C selama 24-48 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik (SNI 2897 : 2008 dengan modifikasi). Perhitungan jumlah TPC dilakukan menggunakan rumus berdasarkan Surahmaida & Hartika (2018), yaitu jumlah koloni x 1/faktor pengenceran.

Isolasi dan Identifikasi

Setelah proses pengayaan, setiap sampel diambil dari tabung reaksi menggunakan ose dan diinokulasikan pada media *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) dan *Xylose-Lysine Deoxycholate Agar* (XLDA) lalu diinkubasikan menggunakan inkubator dengan suhu 35 °C selama 24 jam ± 2 jam. Setelah inkubasi, identifikasi dilakukan melalui pengamatan pada media SSA dan XLDA.

Perbanyakan Koloni

Sebanyak satu koloni dari masing-masing media SSA dan XLDA diambil untuk diperbanyak pada media *Tryptose Soya Agar* (TSA) lalu diinkubasikan menggunakan inkubator dengan suhu 35 °C selama 24 jam ± 2 jam. Koloni yang sudah diperbanyak akan digunakan dalam proses pewarnaan gram dan uji biokimia.

Pewarnaan Gram

Sebanyak satu koloni pada masing-masing media SSA dan XLDA yang sudah diperbanyak pada media TSA diambil lalu diletakkan pada kaca objek yang sudah dibersihkan dan ditetesi akuades sebanyak 1 tetes lalu difiksasi di atas api bunsen. Selanjutnya, preparat ditetesi oleh pewarna *crystal violet* dan didiamkan selama 1-2 menit lalu dibilas dengan akuades. Setelah dibilas, preparat ditetesi dengan larutan *lugol* dan dibiarkan selama 30 detik lalu larutan dibuang dan dibilas kembali. Preparat selanjutnya dilunturkan menggunakan etanol lalu dicuci dengan akuades. Terakhir, teteskan pewarna *safranin* dan biarkan selama 2 menit lalu dibilas menggunakan akuades kemudian biarkan kering. Jika sudah kering, tetesi minyak emersi lalu preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x (Darmawan *et al.*, 2020).

Uji Biokimia

Uji biokimia merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan sifat biokimianya. Uji biokimia yang dilakukan pada penelitian ini yaitu Uji pada media *Kligler Iron Agar* (KIA), Uji *Motility-Indole-Urea* (MIU), dan Uji *Citrate*.

Hasil dan Pembahasan

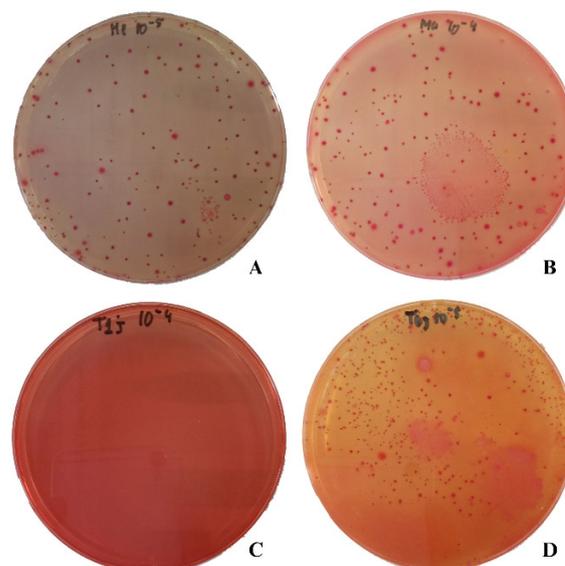
Perhitungan *Total Plate Count* (TPC)

Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan bakteri dengan warna koloni merah pada media MacConkey Agar pada sampel usus ayam mentah, usus ayam marinasi, dan usus ayam tumis dengan lama penyimpanan 6 jam (Gambar 1). Selain itu, perhitungan jumlah bakteri dari pasar I, II, dan III menunjukkan hasil sebanyak 21, 16,7, dan 24,8 $\times 10^6$ CFU pada usus ayam mentah, 0,79, 1,96, dan 9,30 $\times 10^6$ CFU pada usus ayam marinasi, 0, 16, dan 0 $\times 10^6$ CFU pada usus ayam tumis dengan lama penyimpanan 1 jam, serta 0, 18,2, dan 22,1 $\times 10^6$ CFU pada usus ayam tumis dengan lama penyimpanan 6 jam. Berdasarkan hal tersebut terdapat penurunan jumlah bakteri antara usus ayam mentah dan usus ayam marinasi sebesar 96,24% pada pasar I, 85,51% pada pasar II, dan 62,50% pada pasar III dengan rerata persentase penurunan jumlah

bakteri sebesar 81,42%. Penurunan jumlah bakteri melalui proses marinasi menggunakan bumbu kuning dapat terjadi karena adanya aktivitas antibakteri dari bahan yang digunakan untuk marinasi, yaitu bawang putih, bawang merah, dan kunyit. Bawang putih dan bawang merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif (Koca & Tasci, 2016; Edy, 2022), sedangkan kunyit memiliki aktivitas antibakteri (Adamczak *et al.*, 2020) melalui perusakan membran sel bakteri, inhibisi faktor virulensi, dan mengganggu pembentukan *biofilm* (Dai *et al.*, 2022).

Penurunan jumlah bakteri dapat terjadi melalui proses penumisan karena bakteri mengalami inaktivasi dan penurunan jumlah pada suhu 65 °C (Seladi-Schulman, 2020; Rahayu & Hanifa, 2017). Adanya inaktivasi bakteri terjadi karena suhu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada membran dalam dan luar bakteri, dinding sel peptidoglikan, nukleoid, RNA sel, ribosom, serta beberapa enzim yang dimiliki oleh bakteri (Cebrián *et al.*, 2017).

Bahan pangan yang sudah diolah dengan proses marinasi dan penumisan dapat mengalami kontaminasi kembali apabila dibiarkan terlalu lama. Adanya kontaminasi dapat bersumber dari lingkungan, salah satunya yaitu dari udara. Kontaminasi bahan pangan dari udara dapat terjadi karena adanya mikroorganisme seperti virus, bakteri, dan fungi yang tersuspensi di dalam udara, disebut bioaerosol dan dapat



Gambar 1. (A) Hasil TPC pada sampel usus ayam mentah; (B) usus ayam marinasi; (C) usus ayam tumis dengan lama penyimpanan 1 jam; dan (D) 6 jam.

Tabel 1. Hasil Perhitungan *Total Plate Count* (TPC) Metode *Pour Plate*.

Lokasi Sampel	Kelompok Sampel	Hasil Perhitungan ($\times 10^6$ CFU)
Pasar I (Pasar Ciwastra)	Me (A)	21
	Ma (B)	0,79
	T1J (C)	0
	T6J (D)	0
Pasar II (Pasar Rancabolang Sumberhurip)	Me (E)	16,7
	Ma (F)	1,96
	T1J (G)	16
	T6J (H)	18,2
Pasar III (Pasar Kordon)	Me (I)	24,8
	Ma (J)	9,30
	T1J (K)	0
	T6J (L)	22,1

Keterangan: Kelompok sampel usus ayam mentah (Me), usus ayam marinasi (Ma), usus ayam tumis dengan lama penyimpanan 1 jam (T1J) dan 6 jam (T6J) dari Pasar Ciwastra (Pasar I), Pasar Rancabolang Sumberhurip (Pasar II), dan Pasar Kordon (Pasar III).

dengan mudah dipindahkan melalui udara (Kim *et al.*, 2018; Masotti *et al.*, 2019).

Isolasi dan Identifikasi

Hasil penanaman menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh berwarna transparan dengan inti berwarna hitam pada media SSA dan berwarna merah muda dengan inti berwarna hitam pada media XLDA. Adanya inti berwarna hitam disebabkan oleh produksi hidrogen sulfida (H_2S) yang dapat dilakukan oleh beberapa spesies bakteri, seperti *Salmonella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, dan *Proteus* (Lin *et al.*, 2014; Murros, 2022). Hidrogen sulfida dihasilkan karena keberadaan *sodium thiosulphate* dan

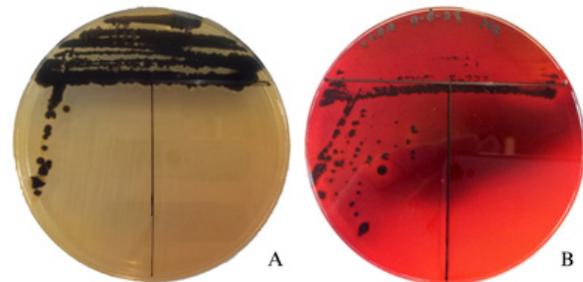
Tabel 2. Hasil Isolasi dan Identifikasi pada Media SSA dan XLDA

Lokasi Sampel	Kelompok Sampel	Media	
		SSA	XLDA
Pasar I	Me		
	Ma		
	T1J	-	-
	T6J	-	-
Pasar II	Me		
	Ma	-	-
	T1J	-	-
	T6J	-	-
Pasar III	Me		-
	Ma		-
	T1J	-	-
	T6J	-	-

Keterangan: Kelompok sampel usus ayam mentah (Me), usus ayam marinasi (Ma), usus ayam tumis dengan lama penyimpanan 1 jam (T1J) dan 6 jam (T6J) dari Pasar Ciwastra (Pasar I), Pasar Rancabolang Sumberhurip (Pasar II), dan Pasar Kordon (Pasar III).

ferric citrate pada media tersebut (Aryal, 2022).

Koloni yang tumbuh pada media SSA dan XLDA dengan karakteristik berwarna transparan dan merah muda dengan inti berwarna hitam dilakukan pewarnaan gram dan pengujian



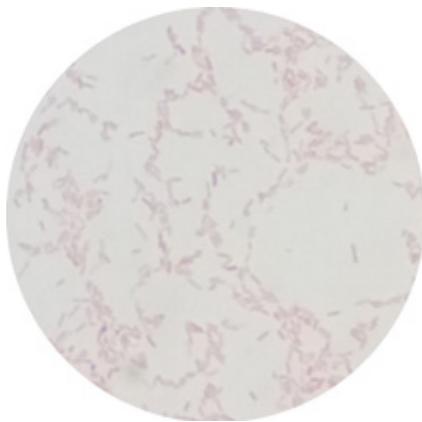
Gambar 2. (A) Hasil penanaman sampel pada media SSA dan; (B) XLDA menunjukkan koloni dengan inti berwarna hitam karena produksi H_2S .

Tabel 3. Hasil Pewarnaan Gram

Lokasi Sampel	Kelompok Sampel	Gram	Morfologi
Pasar I (Pasar Ciwastra)	Me (Media SSA)	Negatif (-)	Batang
	Ma (Media SSA)	Negatif (-)	Batang
	Me (Media XLDA)	Negatif (-)	Batang
	Ma (Media XLDA)	Negatif (-)	Batang
Pasar II (Pasar Rancabolang Sumberhurip)	Me (Media SSA)	Negatif (-)	Batang
	Me (Media XLDA)	Negatif (-)	Batang
Pasar III (Pasar Kordon)	Me (Media SSA)	Negatif (-)	Batang
	Ma (Media SSA)	Negatif (-)	Batang

Keterangan: Kelompok sampel usus ayam mentah (Me) dan marinasi (Ma) dari Pasar Ciwastra (Pasar I), Pasar Rancabolang Sumberhurip (Pasar II), dan Pasar Kordon (Pasar III).

biokimia. Pewarnaan gram menunjukkan bakteri dengan warna kemerahan hingga merah muda dan bentuk seperti batang di bawah mikroskop. Warna kemerahan hingga merah muda menunjukkan bakteri tersebut bersifat gram negatif. Pada pewarnaan gram, bakteri gram negatif tidak dapat mempertahankan pewarna *crystal violet* setelah dilunturkan menggunakan alkohol akibat struktur peptidoglikannya yang tipis (Tripathi & Sapra, 2020; Silhavy et al., 2010). Oleh karena itu, bakteri akan mempertahankan pewarna *safranin* ketika proses pewarnaan kembali (*counterstain*) dan akan berwarna kemerahan hingga merah muda.



Gambar 3. Hasil pewarnaan gram sampel menunjukkan bakteri gram negatif berwarna merah muda dengan morfologi berbentuk batang. Perbesaran 100x.

Pengujian biokimia menunjukkan adanya perubahan media setelah penanaman bakteri. Sebanyak 6 dari 8 sampel memiliki karakteristik biokimia yang sama. Pada media KIA, bagian

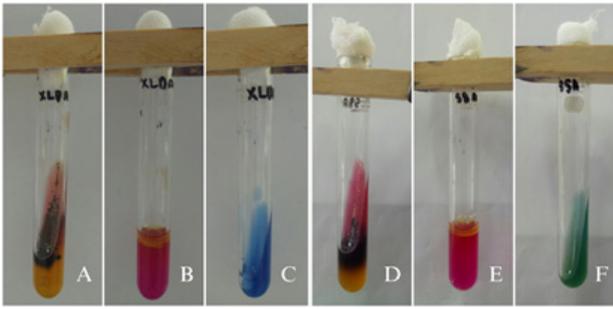
butt berwarna kuning dan *slant* berwarna merah, menunjukkan bahwa bakteri hanya dapat memfermentasi *dextrose* yang ada dalam jumlah sedikit dan tidak bisa memfermentasi laktosa (Aryal, 2020). Selain itu, terdapat juga perubahan warna menjadi hitam pada bagian *butt* dan *slant* yang menunjukkan adanya produksi H_2S . Pada media MIU, terlihat perubahan warna media menjadi merah muda, menandakan adanya produksi enzim *urease* yang mengubah asam amino menjadi amonia yang bersifat basa, sehingga indikator *phenol red* akan tetap berwarna merah muda. Uji *indole* dilakukan dengan meneteskan reagen *kovacs* di permukaan media MIU, menunjukkan tidak ada perubahan warna pada reagen. Hal tersebut terjadi karena tidak ada produksi indol yang dihasilkan dari degradasi asam amino triptofan melalui enzim *tryptophanase* (Rety et al. 2015).

Pada media SCA, terdapat sampel yang menyebabkan perubahan warna pada media dan tidak. Media yang mengalami perubahan warna terjadi karena adanya produksi enzim *citrate-permease* yang dapat memetabolisme sitrat pada media menjadi piruvat. Selain itu, proses metabolisme sitrat juga dapat mendegradasi garam amonium menjadi amonia yang bersifat basa, sehingga indikator *bromthymol blue* pada media berubah menjadi warna biru. Media yang tidak mengalami perubahan warna terjadi karena bakteri tidak dapat memproduksi enzim *citrate-permease*, sehingga tidak ada piruvat dan amonia yang dihasilkan.

Tabel 4. Hasil pewarnaan gram dan pengujian biokimia pada sampel.

Lokasi Sampel	Kel. Sampel	Pengujian Biokimia							SCA
		KIA				MIU			
		<i>Butt</i>	<i>Slant</i>	Gas	H_2S	<i>Motility</i>	<i>Indole</i>	<i>Urease</i>	
Pasar I (Pasar Ciwastra)	Me (Media SSA)	Kuning	Merah	-	+	-	-	+	+
	Ma (Media SSA)	Kuning	Merah	-	+	-	-	+	+
	Me (Media XLDA)	Kuning	Merah	-	+	-	-	+	+
	Ma (Media XLDA)	Kuning	Merah	-	+	-	-	+	+
Pasar II (Pasar Rancabolang Sumbhurip)	Me (Media SSA)	Kuning	Merah	-	+	-	-	+	+
	Me (Media XLDA)	Kuning	Merah	-	+	-	-	+	+
Pasar III (Pasar Kordon)	Me (Media SSA)	Kuning	Merah	-	+	-	-	+	-
	Ma (Media SSA)	Kuning	Merah	-	+	-	-	+	-

Keterangan: Kelompok sampel usus ayam mentah (Me) usus ayam marinasi (Ma). Media *Kligler Iron Agar* (KIA), *Motility-Indole-Urease* (MIU), dan *Simmons Citrate Agar* (SCA).



Gambar 4. (A, D) Hasil pengujian biokimia sampel usus ayam mentah (Me) dan marinasi (Ma) dari Pasar I (Pasar Ciwastra) dan Pasar II (Pasar Rancabolang Sumberhurip) pada media Kligler Iron Agar/ KIA (A), Motility-Indole-Urease/MIU (B), dan Simmons Citrate Agar (SCA) serta sampel usus ayam mentah (Me) dan marinasi (Ma) dari Pasar III (Pasar Kordon) pada media yang sama (D, E, dan F).

Berdasarkan hasil isolasi dan dan identifikasi hingga pengujian biokimia, kemungkinan bakteri yang tumbuh yaitu *Proteus mirabilis* yang dapat disalahtafsirkan sebagai *Salmonella* sp. serta dapat menyulitkan proses isolasi dan identifikasi (Lin *et al.*, 2014). Bakteri *Proteus mirabilis* merupakan salah satu bakteri yang dapat memproduksi H_2S , sehingga pada media SSA dan XLDA akan tampak koloni dengan inti berwarna hitam (Murros, 2022; Tankeshwar, 2022; Lin *et al.*, 2014). Selain itu, secara morfologi dan sifat biokimia, bakteri *Proteus mirabilis* memiliki kemiripan dengan bakteri *Salmonella* sp., diantaranya merupakan bakteri batang gram negatif, dapat memfermentasi *dextrose* dan tidak dapat memfermentasi laktosa, tidak dapat memproduksi indol, dan dapat memproduksi sitrat (Brenner *et al.*, 2005; Tankeshwar, 2022;

Tabel 5. Kemungkinan bakteri pada sampel

Lokasi Sampel	Kelompok Sampel	Kemungkinan Bakteri
Pasar I	Me (Media SSA)	<i>Proteus mirabilis</i>
	Ma (Media SSA)	<i>Proteus mirabilis</i>
	Me (Media XLDA)	<i>Proteus mirabilis</i>
	Ma (Media XLDA)	<i>Proteus mirabilis</i>
Pasar II	Me (Media SSA)	<i>Proteus mirabilis</i>
	Me (Media XLDA)	<i>Proteus mirabilis</i>
Pasar III	Me (Media SSA)	<i>Proteus mirabilis</i>
	Ma (Media SSA)	<i>Proteus mirabilis</i>

Keterangan: Kelompok sampel usus ayam mentah (Me) dan marinasi (Ma).

Babu *et al.*, 2014; Aryal, 2022). Sifat biokimia yang dapat membedakan bakteri *Proteus mirabilis* dengan bakteri *Salmonella* sp. yaitu produksi enzim *urease* yang dapat dilakukan oleh bakteri *Proteus mirabilis*.

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses marinasi dapat menurunkan jumlah bakteri pada bahan pangan dengan rerata sebesar 81,42% karena bahan yang digunakan untuk marinasi memiliki aktivitas antibakteri. Namun demikian, bahan pangan yang telah diolah dapat terkontaminasi oleh bakteri apabila dibiarkan terlalu lama pada suhu ruang, sehingga terjadi pertumbuhan kembali bakteri karena adanya kontaminasi melalui patogen yang tersuspensi pada bioaerosol di udara.

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri pada sampel usus ayam mentah dan marinasi menunjukkan pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* yang dapat terjadi karena kontak usus ayam mentah dengan air yang mengandung bakteri *Proteus mirabilis* pada saat proses pencucian di lokasi pasar tempat dijualnya usus tersebut. Bahan pangan yang akan diolah sebaiknya dapat dilakukan marinasi terlebih dahulu untuk mengurangi jumlah bakteri yang ada. Bahan pangan yang sudah diolah sebaiknya segera dikonsumsi dan tidak disimpan terlalu lama. Apabila perlu disimpan, penyimpanan bahan pangan dapat menggunakan wadah yang sesuai untuk mencegah kemungkinan kontaminasi bakteri atau mikroorganisme patogen lainnya.

Daftar Pustaka

- Adamczak, A., Ożarowski, M., & Karpinski, T. M. (2020). Curcumin, a natural antimicrobial agent with strain-specific activity. *Pharmaceuticals*, 13(7), 153.
- Aryal, 2022. *Salmonella Shigella (SS) Agar- Composition, Principle, Uses, Preparation and Result Interpretation*. <https://microbiologyinfo.com/salmonella-shigella-ss-agar-composition-principle-uses-preparation-and-result-interpretation/>.

- Babu, D., Juneja, V. K., & Kushwaha, K. (2014). Proteus. *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*, 238-243.
- Brenner, Krieg, Staley & Garrity, 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edition, Vol. 2*. 2nd ed. New York: Springer, New York.
- Cebrián, G., Condón, S., & Mañas, P. (2017). Physiology of the inactivation of vegetative bacteria by thermal treatments: Mode of action, influence of environmental factors and inactivation kinetics. *Foods*, 6(12), 107.
- Centers for Disease Control and Prevention, 2022. *Chicken and Food Poisoning*. <https://www.cdc.gov/foodsafety/chicken.html>.
- Dai, C., Lin, J., Li, H., Shen, Z., Wang, Y., Velkov, T., & Shen, J. (2022). The natural product curcumin as an antibacterial agent: Current achievements and problems. *Antioxidants*, 11(3), 459.
- Edy, H. J. (2022). Pemanfaatan Bawang Merah (*Allium cepa* L) Sebagai Antibakteri di Indonesia. *Jurnal Farmasi Medica/ Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 5(1), 27-35.
- Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 237/KPTS/PK.400/M/3/2019 tentang Penetapan Zoonosis Prioritas.
- Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2018). Airborne bioaerosols and their impact on human health. *Journal of Environmental sciences*, 67, 23-35.
- Koca, I., & Tasci, B. (2016). *Garlic as a functional food*. *Acta Horticulturae*, (1143), 139–146.
- Lin, D., Yan, M., Lin, S., & Chen, S. (2014). Increasing prevalence of hydrogen sulfide negative Salmonella in retail meats. *Food microbiology*, 43, 1-4.
- Masotti, F., Cattaneo, S., Stuknytė, M., & De Noni, I. (2019). Airborne contamination in the food industry: An update on monitoring and disinfection techniques of air. *Trends in food science & technology*, 90, 147-156.
- Meneses, R., & Teixeira, P. (2022). Marination as a Hurdle to Microbial Pathogens and Spoilers in Poultry Meat Products: A Brief Review. *Applied Sciences*, 12(22), 11774.
- Murros, K. E. (2022). Hydrogen sulfide produced by gut bacteria may induce Parkinson's disease. *Cells*, 11(6), 978.
- Putra, A. S., & Ismanto, A. (2022). Pengaruh perendaman usus ayam dengan ekstrak daun sirih (piper betel) terhadap kualitas fisik, organoleptik dan total bakteri. *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 5(1), 9-16.
- Rahayu, T. N., & Hanifa, S. (2017). Potensi Cangkang Telur sebagai Sumber Kalsium dengan Pendekatan Pengaruh Sterilisasi dengan Perebusan terhadap Kadar Kalsium dan *Salmonella* sp. *Jurnal Universitas Terbuka, Jakarta*, 173-181.
- Rety, S., Deschamps, P., & Leulliot, N. (2015). Structure of *Escherichia coli* tryptophanase purified from an alkaline-stressed bacterial culture. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications*, 71(11), 1378-1383.
- Rumini, E., 2021. *Danger Zone Sebagai Pemicu Keracunan Makanan*. <https://atb-bandung.ac.id/berita/danger-zone-sebagai-pemicu-keracunan-makanan>.
- Seladi-Schulman, 2020. *What Temperature Kills Bacteria in Water and Food?*. <https://www.healthline.com/health/what-temperature-kills-bacteria>
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(5), a000414.
- Tankeshwar, 2022a. *Proteus species: Properties, Diseases, Identification*. <https://microbeonline.com/proteus-species-properties-diseases-identification/>.
- Tankeshwar, 2022b. *Salmonella-Shigella (SS) Agar: Composition, Principle and Results*. <https://microbeonline.com/salmonella-shigella-ss-agar-composition-principle-procedure-results/>.

Tripathi N, Sapra A. Gram Staining. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2023. PMID: 32965827.

TKPI, 2019. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia*. https://m.andrafarm.com/_andra.php?_i=daftar-tkpi&kmakan=FP002.