

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tinjauan Umum Tentang *Shigella sp*

##### 1. Pengertian *Shigella sp*

*Shigella sp* merupakan bakteri *family Enterobacteriaceae* bersifat Gram-negatif atau bakteri patogen yang menyebabkan penyakit pada saluran pencernaan terhadap hewan dan manusia. Bakteri *Shigella* ditularkan melalui kontaminasi pada makanan atau air. Organisme *Shigella* menyebabkan *disentri basiler* dan menghasilkan *respons inflamasi* pada kolon melalui *enterotoksin* dan invasi bakteri. Secara klasik, *Shigellosis* timbul dengan gejala adanya nyeri *abdomen*, demam, BAB berdarah, dan *feses* berlendir. Gejala awal setelah 3 – 5 hari kemudian. Lamanya gejala rata-rata pada orang dewasa adalah 7 hari, pada kasus yang lebih parah menetap selama 3–4 minggu. *Shigellosis kronis* dapat menyerupai *kolitis ulseratif*, dan status *kariier kronis* dapat terjadi. Infeksi *Shigella* praktis selalu terbatas pada saluran pencernaan atau invasi dalam darah sangat jarang. *Shigella* menimbulkan penyakit yang sangat menular. Dosis infeksi kurang dari 10<sup>3</sup> organisme (Suyana dkk., 2015).

##### 2. Taksonomi *Shigella sp*

Klasifikasi dari *Shigella sp* adalah sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Divisi</i>	: <i>Proteobacteria</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Gammaproteobacteria</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Enterobaktrales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Shigella</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Shigella sp.</i>

### 3. Morfologi *Shigella sp*



**Gambar 1.** Bakteri *Shigella sp*  
(Sumber : San Jose, 2015)

*Shigella sp* merupakan bakteri patogen pada hewan dan manusia. *Shigella* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang, fakultatif anaerob tetapi paling baik tumbuh secara *aerobic*, tidak berspora, tidak berkapsul, dan tidak motil, berukuran  $0,5 \times 1-3 \mu\text{m}$ , tumbuh optimum pada suhu  $37^\circ\text{C}$  dan pH 7,4. Koloninya *konveks*, bulat, transparan dengan pinggir-pinggir utuh mencapai diameter kira-kira 2mm dalam 24 jam. Kuman ini sering ditemukan pada perbenihan *diferensial* karena ketidakmampuannya meragikan laktosa. *Shigella* juga mempunyai susunan antigen yang kompleks (Dentje T. Sembel, 2015 ).

### 4. Patogenesis *Shigella sp*

*Shigella sp.* merupakan bakteri yang tahan asam sehingga bisa melewati asam lambung dan mencapai bagian usus, mulanya pada usus bakteri *Shigella sp.* menginvasi sel M, kemudian bakteri akan bermultifikasi di dalam sel dan mendorong tubuh bakteri melewati sitoplasma sel dan akan menginvasi sel yang berdekatan. Saat bakteri mulai memasuki sel *enterosit* akan *difagosit* oleh makrofag, tetapi *Shigella sp.* dapat menginduksi makrofag untuk terjadi *apoptosis* (Jorgensen James H dkk, 2015).

Makrofag yang *apoptosis* mengeluarkan bakteri *Shigella sp.* yang akan mengalami *transport retrogard* melalui bagian *basolateral* pada mukosa menuju ke *enterosit*, lalu akan terjadi proses invasi yang difasilitasi oleh

membran luar *polipeptida* dan akan bereproduksi di dalam *enterosit* yang menyebabkan *enterosit apoptosis*. Invasi akan berlanjut dari sel satu ke sel yang lainnya dan menetap sampai pada bagian mukosa kolon dan jarang menyebar ke peredaran darah *invasi Shigella sp.* akan menghancurkan *enterosit* yang akan membentuk ulkus pada mukosa yang umumnya terbentuk di kolon, ulkus akan menyebabkan perdarahan, oleh karena itu pada uji feses menandakan tanda klasik disentri yang hasilnya menunjukkan terdapat sel darah putih, sel darah merah, bakteri dan lain-lain (Sureshabu, 2018).

*Shigella sp.* atau *Shigellosis* disebut juga *Disentri basiler*. Disentri salah satu dari berbagai gangguan yang ditandai dengan peradangan usus, terutama kolon dan disertai nyeri perut, *tenesmus* dan buang air besar yang sering mengandung darah dan lender. Habitat alamiah kuman disentri adalah usus besar manusia, dimana kuman tersebut dapat menyebabkan *disentri basiler*. *Shigella sp.* ditularkan melalui jalur *fecal-oral* dan masuk dalam tubuh secara *per oral* melalui makanan atau air yang terkontaminasi. Infeksi *Shigella* praktis selalu terbatas pada saluran pencernaan, invasi dalam darah sangat jarang. *Shigella sp.* menimbulkan penyakit yang sangat menular dan bakteri ini juga cukup tahan terhadap suasana asam pada lambung sehingga dapat masuk ke dalam usus. Di dalam usus, bakteri berkembang biak dan menyebar dalam lapisan *sub mukosa* yang dapat berpenetrasi ke mukosa karena bakteri ini secara genetik memiliki "*invasion plasmids*" sehingga menyebabkan kematian sel usus, *ulserasi fokal*, pengelupasan sel-sel *mukosa*, lendir disertai darah dalam lumen usus, dan adanya akumulasi sel-sel inflamasi pada lapisan *sub mukosa*. Selain itu diketahui bahwa *Shigella dysenteriae* menghasilkan *Shiga Toxin*. Diduga racun ini berperan dalam merusak sel-sel *endotel* dari *propria lamina* sehingga terjadi perubahan *mikroangiopati* (Amaliah, 2015).

## 5. Fisiologi *Shigella sp*

*Shigella spp.* adalah bakteri *mesofil* (mampu bertahan hidup pada suhu setinggi 47°C dengan suhu bertahan hidup minimum 6°C) dan tumbuh subur

di lingkungan dengan kisaran pH 7,8 optimal pada suhu 37°C. Agar bakteri ini berhasil, lingkungan hanya dapat menampung maksimal dari 5 persen bahan kimia berbahaya. 16,24 Karakteristik ini memudahkan kontaminasi makanan oleh bakteri *Shigella sp.* Rute *fecal-oral* digunakan untuk transmisi bakteri *Shigella spp.* dapat menyebar melalui kontak langsung atau menelan makanan atau air yang terkontaminasi. Sifat koloni kuman adalah sebagai berikut : Kecil, halus, tidak berwarna atau bening bila di tanam pada media *Agar SS*, *EMBA*, *Endo*, dan *Mc Conky* (Amalia, 2015). Menurut penelitian Nygren dkk (2012), ada beberapa faktor yang berkontribusi atas kasus-kasus KLB (Kejadian Luar Biasa) *shigellosis* di Amerika Serikat, yaitu penyaji makanan yang telah terinfeksi, pengaturan suhu yang tidak adekuat, dan pencucian alat-alat masak serta persiapan masakan yang tidak benar.

## 6. Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan hal yang penting dalam ekosistem pangan. Suatu pengetahuan dan pengertian tentang faktor yang mempengaruhi kemampuan tersebut sangat penting untuk mengendalikan hubungan antara mikroorganisme, makanan, dan manusia. Beberapa faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan *Shigella sp* meliputi suhu, aktivitas air, pH, dan tersedianya oksigen.

### a) Suhu

Suhu secara signifikan mempengaruhi pertumbuhan spesies bakteri. Bakteri dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok berdasarkan *suhu*, *psikrofilik*, *mesofilik*, dan *termofilik*. Sebagian besar bakteri bersifat *mesofilik*, dengan suhu *optimal* untuk berbagai bentuk hidup bebas 30°C. Selain mempengaruhi laju pertumbuhan, suhu juga dapat membunuh mikroorganisme jika terlalu ekstrim. Bahan makan mentah dianjurkan disimpan dalam suhu dibawah 5°C, sedangkan makanan yang telah dimasak dihidangkan dalam suhu diatas 60°C.

b) pH

Derajat keasaman (pH) optimal secara empirik harus ditentukan untuk masing-masing spesies. Berdasarkan derajat keasaman, bakteri dapat dibagi menjadi 3 kelompok yaitu *netrofilik* (pH 6,0-8,0), *asidofilik* (pH optimal serendah 3,0), dan *alkalofilik* (pH optimal setinggi 10,5). Akan tetapi sebagian besar *organisme* tumbuh dengan baik pada pH 6,0-8,0 (*netrofilik*), misalkan *E. coli* dapat hidup di lingkungan makanan yang asam pada pH dibawah 4,4.

c) Ketersediaan Oksigen

Gas atau oksigen menjadi salah satunya faktor lain yang mungkin mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Bakteri dapat dibagi menjadi empat kategori sesuai dengan kebutuhan oksigennya: Bakteri *aerob* (bakteri yang membutuhkan oksigen), Bakteri *anaerob* (bakteri yang tidak membutuhkan oksigen), *Anaerob fakultatif* (bakteri yang dapat tumbuh dalam kondisi aerob dan anaerob), *Anaerob obligat* (bakteri yang tidak dapat tumbuh dalam kondisi aerob atau anaerob) atau (bakteri dapat tumbuh dengan baik dalam keadaan sedikit oksigen). Karena ketidakmampuan mereka untuk bertahan hidup dalam oksigen bakteri gram negatif. Hal ini menyebabkan *anaerobik* dan menyebabkan *anaerobik* yang terlihat dapat berkembang biak dan menimbulkan penyakit.

## 7. Pencegahan Kontaminasi *Shigella sp* Pada Makanan dan Minuman

Makanan dan minuman yang di cemari oleh bakteri dapat disebabkan oleh penanganan makanan yang tidak higienis dan dengan sanitasi yang buruk. Berikut adalah yang dapat meminimalisir terjadinya pencemaran makanan adalah.

- a. Mencuci tangan sebelum atau sesudah mengolah makanan, serta mencuci dan membersihkan peralatan masak serta perlengkapan makan sebelum dan setelah digunakan

- b. Tidak meletakkan makanan matang pada wadah yang sama dengan pangan mentah
- c. Memasak makanan harus sampai matang dengan sempurna, dan memanaskan makanan harus dilakukan sampai suhu  $> 70^{\circ}\text{C}$  selama kurang lebih 20 menit.
- d. Jarak waktu antara proses memasak dan konsumsi makanan sebaiknya dalam periode 2 jam.

Risiko kurangnya pengetahuan akibat kebersihan menyebabkan munculnya bakteri patogen yang menyumbang 23% penyebab kematian secara global, sebanyak 2,5 juta kematian terkait penyakit *infeksi, parasit, neonatal dan gizi* serta memiliki laporan yang lebih besar pada anak-anak. Salah satu yang masih terjadi di Indonesia adalah diare. Diare disebabkan oleh infeksi *bakteri, virus atau parasit, malabsorpsi, alergi, keracunan, dan juga imunodefisiensi*. Jika diare tidak ditangani dengan serius maka akan mengakibatkan *dehidrasi dan malnutrisi*. WHO menyatakan bahwa diare merupakan penyebab kematian balita nomor dua di dunia. Penyakit diare berkontribusi besar terhadap malnutrisi dan kematian anak dan dapat menyerang semua umur sehingga harus mendapat perhatian khusus karena jumlah kasus yang masih tinggi. Berdasarkan data WHO tahun 2017, terdapat 1,7 juta kasus diare pada balita setiap tahun dan (30,8%) diantaranya meninggal akibat diare (Kurniawati *dkk.*, 2021).

## **B. Tinjauan Umum Tentang Feses**

### **1. Feses**

Feses adalah produk limbah akhir yang dihasilkan oleh sistem pencernaan merupakan limbah tubuh padat yang dibuang dari usus besar melalui anus saat defekasi. Tinja biasanya dikeluarkan dari tubuh satu atau dua kali dalam sehari. Orang dewasa mengeluarkan feses antara 100-300 gram/hari yang 70% diantaranya adalah tinja. Bentuk dan komposisi feses bergantung pada proses absorpsi, sekresi dan fermentasi. Feses normal akan berwarna

kuning (berasal dari degradasi pigmen empedu oleh bakteri), tidak lembek dan tidak keras, berbau khas (berasal dari indol, skatol, dan asam butirat). Protein yang tidak tercerna dengan baik akan menyebabkan bau yang kuat (Setya, 2013).

Sekitar 100 sampai 250 gram feces yang dikeluarkan oleh manusia dewasa setiap hari. Pada umumnya, feces manusia terdiri atas 75% H<sub>2</sub>O dan 25% materi padat. Sekitar 30% dari materi padat terdiri atas bakteri – bakteri yang telah mati, 30% terdiri atas materi makanan yang telah dicerna seperti selulosa, 10 – 20% terdapat kolesterol dan lemak lainnya, 10 – 20% zat anorganik seperti kalsium fosfat dan besi pigmen – pigmen empedu dan sel leukosit mati. Warna coklat kekuningan pada feces disebabkan oleh bahan kimia indole, skatole, hydrogen sulfide, dan merkaptan, yang diproduksi oleh aksi bakteri.

## 2. Karakteristik Feses

### a. Warna

Warna feces yang di biarkan pada udara pada udara menjadi lebih tua karena terbentuknya lebih banyak urobilinogen yang di eksresikan lewat usus. Urobilinogen tidak berwarna sedangkan urobilin berwarna coklat tua, selain urobilin yang normal ada warna feces di pengaruhi oleh jenis makanan, oleh kelainan dalam saluran usus dan oleh obat – obat yang di berikan.

### b. Bau

Bau khas feces disebabkan oleh aktivitas bakteri. Bakteri yang menghasilkan senyawa seperti *indole*, *skatole*, dan *thiol* (senyawa yang mengandung belerang), dan juga gas *hidrogen sulfida*. Asupan makanan berupa rempah-rempah dapat menambah bau khas feces. Bau itu menjadi bau busuk jika dalam usus terjadi pembusukan isinya, yaitu protein yang tidak dicernakan dan di rombak oleh kuman – kuman. Feces berbau asam: keadaan itu disebabkan oleh peragian (fermentasi) zat – zat gula yang

tidak di cerna. Reaksi feses dalam hal itu menjadi asam. Bau tengik dalam feses di sebabkan zat lemak pelepasan dan perombakan zat lemak pelepasan asam – asam lemak.

c. Konsistensi

Feses normal agak lunak dengan mempunyai bentuk sedangkan pada feses tertentu konsistensinya menjadi sangat lunak atau cair, sebaliknya pada konstipasi di data feses keras peragian karbohidrat dalam usus yang menghasilkan feses lunak dan bercampur gas (CO<sub>2</sub>).

d. Lendir

Adanya lendir karena rangsangan atau radang pada dinding usus. Jika lendir hanya di dapat pada bagian luar feses, lokalisasi iritasi pada usus besar jika bercampur baur dengan feses. Pada *dysentri intususepsi* dan *ileocilitis* mungkin di dapat lendir saja tanpa feses. Kalau lendir berisi banyak *leukosit* terjadi nanah.

e. Darah

Feses yang bercampur baur dengan darah segar akan mengasilkan feses berwarna merah muda. Makin promaximal terjadinya pendarahan, makin bercampurlah darah dengan feses dan akan berwarna hitam. Jumlah darah yang besar mungkin disebabkan oleh *ulcus*, *varices* dalam *oesphagus* atau *hemorrhoid* (Azwarini, 2015).

### C. Tinjauan Umum Tentang Pemeriksaan Bakteri

#### 1. Media Pertumbuhan

Media merupakan substrat yang berguna untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri. Pertumbuhan dan perkembangan bakteri dapat dilakukan pada media yang didalamnya telah terkandung zat- zat nutrisi seperti karbon, nitrogen dan garam- garam anorganik, yaitu *folat*, *sulfat*, *potasium*, *sodium magnesium*, *kalsium*, *besi* dan *mangan* (Sakinah dkk., 2019).

Media pertumbuhan bakteri berdasarkan sifat dan fungsinya iterbagi menjadi beberapa kelompok antara lain media *transport*, media diperkaya,

media selektif (*selective and differential media*), media pengujian, media perhitungan jumlah dan media umum (*universal media*). Sedangkan berdasarkan bahan penyusunnya media dibedakan dua macam yaitu media *sintetis* dan media *alami*. *Media sintetis* yaitu media yang terdiri dari bahan-bahan yang telah diketahui komposisinya seperti media *Nutrient Agar*. *Media alami* yaitu media yang terdiri dari bahan-bahan alami seperti *ekstrak* kentang, sari wortel dan umbi-umbian (Rizky, 2013).

**a) Berdasarkan Komposisi atau Susunan Bahannya ;**

1. Media Alami

Komposisi media ini tidak diketahui secara pasti baik jenisnya maupun ukurannya. Media ini sudah tersedia secara alami misalnya air, nasi, buah, biji, daging dan lain-lain.

2. Media Sintetis

Sering juga disebut media buatan. Komposisi senyawa berikut takarannya diketahui secara pasti, tidak tersedia secara alami tapi dibuat. *Media sintetis* sering digunakan untuk mempelajari sifat *genetika mikroorganisme*. Senyawa *organik dan anorganik* ditambahkan dalam media sintetis harus murni sehingga harganya mahal, misalnya: *sabouroud agar*, *czapek's dox agar*, cairan *hanks* dan lain-lain.

3. Media Semi Sintetis

Komposisinya sebagian diketahui secara pasti, sebagian lagi tidak disebut juga media setengah buatan misalnya *potato dextrose agar*, *nutrient agar* dan lain- lain (Sakinah dkk., 2019).

**b) Berdasarkan Bentuknya ;**

1. Media Cair

Komposisi dapat sintetis dapat pula alami. Keadaan cair karena tidak ditambahkan bahan pematat.

## 2. Media Padat

Sama halnya dengan media cair hanya bedanya disini ditambahkan bahan pematat (*agar-agar, amilum atau gelatin*).

## 3. Media Semi Padat

Sebenarnya media ini termasuk media padat tapi karena keadaanya lembek disebut *semisolid*. Bahan pematat yang ditambahkan kurang dari setengah medium padat sedangkan komposisinya sama dengan yang lainnya (Sakinah *dkk.*, 2019).

### c) Berdasarkan Kegunaannya ;

#### 1. Media Umum

Media ini digunakan secara umum artinya media ini dapat ditumbuhi oleh berbagai jenis *mikroorganisme* baik bakteri maupun jamur misalnya NA (*nutrient agar*) dan lain-lain.

#### 2. Media Selektif

Media ini dipakai untuk menyeleksi *mikroorganisme* sesuai dengan yang diinginkan jadi hanya satu jenis *mikroorganisme* saja yang dapat tumbuh dalam media ini atau hanya satu kelompok tertentu saja, misalnya Media Selektif *Brain Hearth Infusion Broth* (BHIB) dan media SSA (*Salmonella Shigella Agar*).

#### 3. Media Diferensial

Media ini digunakan untuk menyeleksi mikroorganisme. Medium ini dapat ditumbuhi berbagai jenis mikroorganisme tapi salah satu diantaranya dapat memberikan salah satu ciri yang khas sehingga dapat dibedakan dari yang lain dan dapat dipisahkan, misalnya *media Sorbitol MacConkey Agar* (SMAC) dilakukan apabila didapatkan koloni *E. Coli*, media SSA (*Salmonella Shigella Agar*) media untuk mengisolasi bakteri *Salmonella sp.* dan *Shigella sp.* dari sampel feses, urin dan makanan.

#### 4. Medium Pengaya

Medium ini digunakan untuk menumbuhkan *mikroorganisme* untuk keperluan tertentu. Dibiakkan dalam medium ini supaya sel-sel *mikroorganisme* tertentu dapat berkembang dengan cepat sehingga diperoleh populasi yang tinggi. Komposisi medium sangat diperluka dan sangat menguntungkan bagi pertumbuhan sel mikroorganisme yang bersangkutan.

#### 2. Penanaman Bakteri (Bentuk Kultur)

Kultur adalah metode diagnostik definitif untuk sebagian besar bakteri dan jamur. Sampel ditumbuhkan pada media pertumbuhan dengan komposisi dan kondisi inkubasi yang disesuaikan dengan mikroorganisme yang akan diisolasi pada media tersebut. Media adalah zat yang komposisinya meliputi *nutrisi* yang berfungsi untuk menumbuhkan mikroorganisme, mengisolasi, menambah jumlah koloni, memeriksa sifat fisiologis dan menghitung jumlah *mikroorganisme*. Namun dalam proses produksinya harus terlebih dahulu disterilkan dan diaplikasikan secara *aseptik* untuk menghindari pencemaran lingkungan (Firmansyah *dkk.*, 2015).

Penanaman bakteri (*inokulasi*) adalah pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru. Pekerjaan ini memerlukan ketelitian dalam keadaan steril baik alat maupun ruangnya yang digunakan untuk inokulasi bakteri di dalam laboratorium. Keadaan yang *steril* ini ditujukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi yaitu masuknya mikroorganisme yang tidak diinginkan (Firmansyah *dkk.*, 2015)

Kultivasi mikroba dilakukan dengan berbagai media pertumbuhan. Media pertumbuhan terdiri dari beberapa macam seperti media pertumbuhan *universal* atau umum hingga media *selektif diferensial* seperti *media SSA (Salmonella Shigella Agar)* dilakukan apabila didapatkan koloni bakteri *Shigella sp.* pada *media Brain Heart Infusion Broth (BHIB)*. *Nutrient Broth (NB)* dan *Nutrient Agar (NA)* termasuk ke dalam media umum yang digunakan

untuk menumbuhkan biakan secara general diformulasikan dengan sumber *karbon* dan *nitrogen* supaya dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri. Komposisi yang terdiri dari *beef extract* sebagai sumber *karbon* dan *pepton* sebagai sumber *nitrogen* (Wahyuningsih & Zulaika, 2019).

Dalam kultur mikroorganisme terdapat 3 metode atau prosedur untuk melakukan kultur mikroorganisme sehingga diperoleh koloni-koloni terpisah (*discrete colonies*), tiga metode tersebut adalah :

1) Metode *Pour Plate*

Metode *pour plate* merupakan metode untuk memperoleh biakan murni dari populasi campuran mikroorganisme dengan cara mengencerkan *specimen* yang kemudian dituangkan kedalam *cawan steril* dan diikuti dengan menuangkan *medium agar* yang telah dicairkan dan didinginkan (Angelia, 2020).

2) Metode *Spread Plate*

Teknik *spread plate* adalah teknik isolasi mikroba menggunakan cara menginokulasi kultur mikroba secara pulasan/sebaran pada permukaan media supaya yang sudah memadat. Metode ini dilakukan menggunakan mengencerkan biakan kultur mikroba. Lantaran konsentrasi sel-sel mikroba dalam biasanya tidak diketahui, maka pengenceran perlu dilakukan beberapa tahap, sehingga sekurang-kurangnya terdapat satu menurut pengenceran itu yang mengandung koloni terpisah (30-300 koloni) karena koloni mikrobial yang terpisah memungkinkan koloni tadi bisa dihitung (Angelia, 2020).

3) Metode *Streak Plate*

Prinsip dari metode ini adalah teknik pengenceran dengan cara digoreskan dari satu cincin kultur campuran yang dibibitkan pada permukaan *cawan agar*. Metode gores umumnya digunakan untuk mengisolasi koloni mikroba pada *cawan agar* untuk mendapatkan koloni terisolasi dan kultur murni. Dasar dari metode ini adalah untuk

mengikis suspensi bahan yang mengandung bakteri dari permukaan agar yang sesuai dalam cawan Petri. Setelah inkubasi, goresan mengembangkan koloni berbeda yang mungkin berasal dari 1 sel mikroba, sehingga dapat diisolasi lebih lanjut (Angelia, 2020).

### 3. Pemeriksaan Laboratorium

Evaluasi laboratorium pasien tersangka infeksi diare dimulai dari pemeriksaan *feses* adanya *leukosit*. Kotoran biasanya tidak mengandung leukosit, jika ada maka dianggap sebagai penanda inflamasi kolon baik infeksi maupun non infeksi. Karena *netrofil* akan berubah, sampel harus diperiksa sesegera mungkin. Sensitifitas *leukosit feses* terhadap *inflamasi patogen* yang dideteksi dengan *kultur feses* bervariasi dari 45%-95% tergantung dari jenis patogennya.

#### a. Identifikasi Bakteri *Shigella sp*

Uji identifikasi sering dilakukan untuk mengamati morfologi koloni meliputi bentuk koloni bakteri, warna, tepi dan elevasi koloni bakteri. Uji yang dilakukan antara lain uji pengkayaan, isolasi, uji biokimia serta uji konfirmasi keberadaan *Shigella sp* dengan pengecatan gram.

##### 1) Isolasi pada Media *Brain Hearth Infusion Broth* (BHIB)

*Brain Hearth Infusion Broth* (BHIB) adalah medium cair yang mengandung *karbohidrat* dan *protein* yang digunakan sebagai media penyubur untuk pertumbuhan bakteri Gram-negatif. BHIB adalah media penyubur baik bentuk cair maupun agar serta menjadi bahan utama terdiri dari beberapa jaringan hewan ditambah *pepton*, *buffer posfat*, dan sedikit *dekstrosa*. Penambahan karbohidrat memungkinkan bakteri dapat menggunakan langsung sebagai sumber energi.

##### 2) Inokulasi pada Media SSA (*Salmonella Shigella Agar*)

SSA (*Salmonella Shigella Agar*) adalah khusus untuk basil gram negatif patogen enterik, sehingga dipakai untuk inokulasi dari spesimen tinja terutama *Salmonella Shigella*. Media ini tersusun dari beberapa

macam bahan yaitu: Laktosa merupakan sumber karbohidrat, Campuran garam empedu, *Natrium sitrat*, dan *Brilliant Green* menghambat bakteri gram positif, dan sebagian besar bakteri coliform sehingga kuman *Salmonella sp* dan *Shigella sp* dapat tumbuh dengan baik. Campuran ekstrak daging dan *pepton* menyediakan kebutuhan *nitrogen*, Vitamin, mineral dan asam amino diperlukan untuk pertumbuhan. Komposisi media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) yaitu: *Lab-Lemco Powder*: 5,0 gr, *Laktose*: 10,0 gr, *Sodium Citrate*: 10,0 gr, *Ferric citrate* : 1,0 gr, *Neutral red* : 0,025 gr, *Peptone* : 5,0 gr, *Bile Salt*: 8,5 gr, *Sodium thiosulphate*: 8,5 gr, *Briliant green*: 0,0033 gr, *Bacto Agar*: 13,5 gr (Yuniarty, 2013: 20).

### 3) Identifikasi Bakteri

#### a) Pewarnaan Gram Bakteri

Pewarnaan Gram adalah jenis pewarnaan yang banyak digunakan dilaboratorium untuk membedakan antara bakteri gram negatif dan gram positif. Pewarnaan Gram bakteri membutuhkan penggunaan beberapa komponen yang berbeda, termasuk *gentian violet*, *Lugol*, *safranin*, dan *alkohol*. Jika terdapat bakteri gram negatif akan berwarna *sekunder* (*safranin*). *Safranin* adalah pewarna yang digunakan dalam banyak persiapan pewarnaan yang berbeda. Pewarnaan Gram untuk bakteri adalah salah satu dari *preparat* salah satunya yaitu pewarnaan gram menghasilkan warna merah, terutama untuk bakteri gram negatif. Karena bakteri gram negatif memiliki *peptidoglikan* yang tipis dan lapisan lemak yang tebal pada dinding bakteri, ikatan yang terbentuk saat menempel pada *gentian violet* lemah. Lemak menghilang saat bakteri dilarutkan dalam alkohol dan warna *gentian violet* juga memudar. Karena tidak terwarnai, bakteri dapat menyerap warna merah pada *safranin*.

b) Uji Biokimia Uji TSIA ( *Triple Sugar Iron Agar*)

Uji *Triple Sugar Iron agar* merupakan suatu uji biokimia yang digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasi karbohidrat serta menentukan apakah basil gram negatif memfermentasi glukosa dan laktosa atau sukrosa dan membentuk hidrogen sulfida ( $H_2S$ ) (Saidah & Susilawati, 2018). Uji TSIA pada suatu bakteri dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa apabila media pada bagian atas dan bagian bawah berwarna kuning dan dikatakan tidak dapat memfermentasi semua karbohidrat (glukosa, laktosa, dan sukrosa), apabila bagian atas dan bagian bawah berwarna merah (Aini, 2018).