

Detection of Salmonella Contamination Based on PCR on Takjil Food in Padang State University Area

Deteksi Cemaran Salmonella berbasis PCR pada Makanan Takjil di Kawasan Universitas Negeri Padang

Nurul Aulia¹⁾, Oliv Nurul Kanaya¹⁾, Rinti Mutiara Sari¹⁾, Afifatul Achyar¹⁾

¹⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang

Jl. Prof Dr. Hamka Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang

Email: nurulaulia1807@gmail.com

ABSTRAK

Makanan takjil merupakan sumber potensial yang mempunyai nilai komoditas dan menunjang perekonomian bagi masyarakat pada bulan ramadhan karena banyak makanan ini yang dibuat dalam skala kecil sebagai industri rumahan. Banyak umat muslim yang berpuasa membeli makanan takjil ini karena dinilai praktis dan juga karena harganya yang terjangkau. Makanan takjil ini biasa diperjual-belikan dipinggir jalan, padahal belum tentu makanan tersebut sesuai dengan standar mutu dan jaminan bahwa makanan tersebut aman dan layak untuk dikonsumsi. Dalam kondisi lemah, bakteri *Salmonella* Sp dengan mudah masuk melalui berbagai cara salah satunya melalui makanan dan kebersihannya kurang dijaga atau tercemar oleh konsumen dengan bakteri *Salmonella*, maka perbaikan sanitasi harus dilakukan dan untuk pencegahan kontaminasi makanan dengan hewan pengerat atau binatang lainnya yang mengeluarkan *Salmonella* Sp. Penelitian ini bertujuan mendeteksi cemaran *Salmonella* berbasis PCR pada makanan takjil di kawasan Universitas Negeri Padang. Hasil elektroforesis PCR menunjukkan semua sampel tidak berhasil teramplifikasi sesuai dengan gen target 559 bp sehingga semua sampel tidak mengandung bakteri *Salmonella* sp.

Keywords: makanan takjil, *Salmonella* sp, PCR

PENDAHULUAN

Penyakit bawaan makanan (*Foodborne disease*) adalah penyakit yang ditimbulkan oleh makanan yang terkontaminasi. Volk dan Wheller (1993) menyatakan bahwa *foodborne disease* yang disebabkan oleh bakteri dapat dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu infeksi makanan dan keracunan makanan. Infeksi makanan terjadi karena konsumsi makanan mengandung bakteri hidup yang mampu bersporulasi di dalam usus dan menimbulkan penyakit (Mirawati *et al*, 2014).

Makanan Takjil merupakan sumber potensial yang mempunyai nilai komoditas dan menunjang perekonomian bagi masyarakat pada bulan ramadhan, karena banyak

makanan ini yang dibuat dalam skala kecil sebagai industri rumahan. Banyak umat muslim yang berpuasa membeli makanan takjil ini karena dinilai praktis dan juga karena harganya yang terjangkau. Makanan takjil ini biasa diperjual-belikan dipinggir jalan, padahal belum tentu makanan tersebut sesuai dengan standar mutu dan jaminan bahwa makanan tersebut aman dan layak untuk dikonsumsi. Saat ini, sangat banyak produsen makanan takjil yang tidak memperhatikan keamanan produknya. Sehingga Makanan takjil ini sangat mudah untuk tercemar mikroorganisme berbahaya seperti *Salmonella*.

Salmonella sp adalah kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang dan tidak berspora. Bakteri ini ditemukan pada tahun 1880 pada penderita demam tifoid oleh Eberth dan dibenarkan oleh Robert Koch dalam budidaya bakteri pada tahun 1881. Bakteri ini memiliki sifat parasit yang menyebabkan reaksi peradangan tractus intestinal pada manusia dan hewan. *Salmonella* digolongkan dalam bakteri patogenik yang menjadi penyebab *foodborne disease* yang disebut Salmonellosis (Karsinah, 2004). Di laboratorium, *Salmonella* dapat tumbuh pada suhu 5-47 °C dan optimum pada suhu 35-37 °C. pH pertumbuhan sekitar 4,0-9,0 dengan pH optimum 6,5-7,5 (Khaq dan Lusiawati, 2016).

Dalam kondisi lemah, bakteri *Salmonella Sp* dengan mudah masuk melalui berbagai cara salah satunya melalui makanan dan kebersihannya kurang dijaga atau tercemar oleh konsumen dengan bakteri *Salmonella*, maka perbaikan sanitasi harus dilakukan dan untuk pencegahan kontaminasi makanan dengan hewan pengerat atau binatang lainnya yang mengeluarkan *Salmonella Sp*. *Salmonella Sp* pada makanan dan minuman berdasarkan keputusan Direktrat Jendral POM –Nomor. 03726/5K/V11/89 tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam makanan, menyatakan bahwa makanan (bahan baku maupun hasil olahan) tidak boleh mengandung *Salmonella Sp*. Yang mana *Salmonella* ini apabila tertelan dan masuk kedalam tubuh maka dapat menyebabkan infeksi gastroenteritis yang menunjukkan gejala seperti demam (Supardi Imam *et al* 1999 dalam Linda *et al*, 2017).

Metode yang digunakan dalam mendeteksi cemaran *Salmonella* pada Makanan Takjil disekitaran lingkungan Universitas Negeri Padang ini menggunakan PCR dengan primer spesifik *Salmonella*. Pendekatan secara molekuler dengan amplifikasi gen spesifik *Salmonella sp* dengan *polymerase chain reaction* (PCR) terbukti lebih sensitif, spesifik, dan cepat dalam mendeteksi keberadaan *Salmonella sp* pada sampel makanan atau minuman (Hermono *et al*, 2017).

Pada penelitian sebelumnya, dimana hasil penelitian Sumarmi, S tahun 2005 di 30 SD di Kota Surabaya ditemukan adanya kontaminasi *E coli* dan *Salmonella*. Selanjutnya Universitas Atmajaya tahun 2008 terhadap minuman yang dijual di beberapa SD di Jakarta yang meliputi : es doger, jus buah, eh teh, es jeruk, es milo, dan es batu ditemukan adanya kontaminasi tiga jenis bakteri yang bisa membahayakan

kesehatan anak-anak, yakni *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, dan *Vibrio cholerae*. Hasil penelitian Susana D, dkk tahun 2008 terhadap 48 sampel makanan dan 24 sampel minuman yang dijajakan di kantin Universitas Indonesia ditemukan adanya kontaminasi *E coli* dan *Salmonella* (Mirawati et al, 2014). Berdasarkan pernyataan tersebut, maka penelitian mengenai deteksi cemaran *Salmonella* berbasis PCR pada makanan takjil di kawasan Universitas Negeri Padang ini sangat penting untuk dilakukan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan April 2022 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Negeri Padang (UNP), Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang, Provinsi Sumatera Barat.

Alat yang dibutuhkan untuk isolasi DNA dengan chelex-TE yaitu: *ice box*, gunting, pulpen marker, plastik zip, mikropipet micropestle, microtube 1,5 ml rak microtube, spatula, waterbath, centrifuge, vortex, spin down, bubuk larutan Chelex-TE 10%, dan pinset. Alat yang digunakan untuk kuantifikasi dan kualifikasi DNA yaitu: nanofotometer, mikropipet 0,1 – 2,0 µl, dan vortex. Alat yang digunakan untuk amplifikasi DNA yaitu : mesin thermal cycler, tabung PCR, mikropipet, spindown, pulpen marker, *ice box*, dan tube's plate. Alat yang digunakan untuk elektroforesis adalah mesin elektroforesis plastic frame, sisir sumur, dan mikropipet. Alat yang digunakan untuk visualisasi hasil elektroforesis adalah Gel Documentation UVITEC.

Total jumlah sampel makanan yang digunakan adalah sebanyak 10 sampel makanan. Sampelnya didapat dari jalan cendrawasih, Universitas Negeri Padang (UNP), Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang, Provinsi Sumatera Barat.

Bahan yang dibutuhkan untuk keperluan sterilisasi yaitu: aquades, alkohol 70%, dan bayclin. Bahan yang diperlukan untuk kuantifikasi dan kualifikasi DNA yaitu: TE buffer, sampel hasil isolasi, dan tissue. Bahan yang digunakan untuk amplifikasi DNA yaitu DNA template, primer, My Taq Hs Red Mix, dan ddH₂O.

1. Persiapan Sampel

Sampel diambil dari makanan yang digunakan adalah sebanyak 10 sampel makanan (Tabel 1). Sampelnya didapat dari jalan cendrawasih, Universitas Negeri Padang (UNP), Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang, Provinsi Sumatera Barat. Kemudian diambil sedikit dimasukkan di microtube.

Tabel 1. Daftar sampel yang dianalisis

Kode sampel	Label/keterangan
CT1	ES Teh
CT2	ES Timun
CT3	Tahu Brontak
CT4	Bakso
CT5	Bakwan
CT6	Sala
CT7	Risol
CT8	Martabak Mie
CT9	Klepon
CT10	Kolak

2. Isolasi DNA makanan

Isolasi DNA makanan menggunakan metode chelex. Membuat larutan Chelex-TE 10% dengan menimbang 0,1 gram Chelex kemudian tambah 1 mL TE pH 8,0, memipet 100 ul larutan Chelex-TE 10% dengan mikropipet dengan tip berlubang lebar (wide bore pipette tips) ke dalam microtube 1,5 ml steril , menambahkan 5 ul Proteinase K (20 mg/ml) ke dalam microtube. Mencampurkan dengan tapping bagian bawah microtube, lalu spin down, Memasukkan sampel makanan sebanyak 10 sampel ke dalam masing-masing microtube hingga terendam di dalam larutan chelex-TE-proteinase K. Menginkubasi pada suhu 56 °C untuk melisiskan sel selama semalaman (start jam: 18.00 WIB.finish jam: 10 WIB). Menginkubasi pada suhu 99 °C selama 10 menit untuk menginaktivasi enzim proteinase K. Sebanyak 0,5 ul supernatan digunakan untuk PCR. Menyimpan sisanya di *freezer* -20 °C.

3. Amplifikasi PCR

Menyalakan thermocycler dalam mercik sampel untuk PCR harus dilakukan pada kondisi suhu 4 °C (bahan-bahan disimpan di dalam es) dan memakai gloves. Menyiapkan tabung PCR, lalu beri label. Mecampurkan bahan-bahan PCR sesuai komposisi di antaranya, PCR master mix sebanyak 65 µL, primer Salmonella AA-F sebanyak 5,2 µL, primer Salmonella AA 5,2 µL, Nuclease Free Water sebanyak 41,6 µL. Memvortex mix PCR selama 3 detik untuk mencampurkan semua komponen, lalu spin down. Membagi mix PCR ke dalam 10 buah tabung PCR dengan volume @ 13 µL. Memastikan tidak ada gelembung udara di dalam tabung PCR dengan cara spin down. Mengatur kondisi suhu dan siklus PCR (program PCR) pada thermal cycler sudah ditentukan. Memasukkan tabung PCR berisi sampel ke sumur-sumur thermal cycler (mesin PCR) Produk PCR divisualisasi dengan melakukan elektroforesis gel agarosa 1,5%. Elektroforesis dilakukan dengan running buffer TAE 1X selama 25 menit pada

arus 100 volt. Lalu hasil elektroforesis dilihat menggunakan UV transilluminator. Dari analisis tersebut maka dapat dilihat suhu annealing optimum berdasarkan pita DNA yang paling tebal, untai tunggal dan ukuran amplikon yang sesuai.

4. Elektroforesis

Elektroforesis diawali dengan pembuatan *gel* agarosa 1,5%. Agarosa sebanyak 1,5 g dilarutkan dalam 100 ml *buffer* TAE 1×. Kemudian dipanaskan dalam *microwave* hingga mendidih dan semua agarosa larut sampai berwarna jernih. Larutan agarosa didiamkan di suhu ruang hingga tidak terlalu panas. Larutan dituang kedalam cetakan sampai sisir pembentuk sumur terendam + 0,5 cm. Selanjutnya *gel* dibiarkan sampai mengeras, kemudian sisir pembentuk sumur dilepas dari *gel* agarosa.

Gel agarosa dan cetakannya diletakkan di *chamber* elektroforesis kemudian *buffer* TAE 1× ditambahkan hingga *gel* agarosa terendam hingga sekitar 1 mm di atas permukaan *gel*. 5 µl produk PCR atau sampel DNA dicampur dengan 1 µl *loading dye* dan *GelRed* yang diletakkan di kertas *parafilm*, diaduk sampai rata. Masukkan campuran DNA *ladder*, *loading dye* dan *GelRed* ke salah satu sumur *gel* agarosa dengan mikropipet. Larutan tersebut dimasukkan kedalam sumur *gel* agarosa (tiap sumur satu larutan DNA).

Setelah semua sampel dimasukkan dalam sumur, tutup *chamber* elektroforesis dan pastikan masing- masing kutub positif dan negatif berada pada tempat yang benar. Sambungkan alat elektroforesis dengan *power supply* dengan tegangan diatur menjadi 100 volt selama 30 menit. Setelah proses elektroforesis selesai, matikan *power supply*. Selanjutnya ambil *gel* agarosa dari cetakan menggunakan sarung tangan lalu letakkan *gel* di atas *UV transiluminator*. Dokumentasikan hasil yang didapatkan.

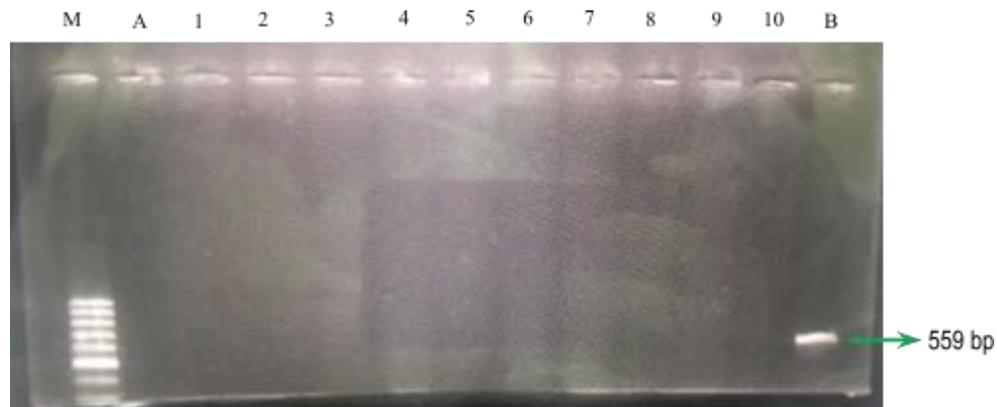
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan identifikasi bakteri *Salmonella* sp pada makanan takjil yang dijual di kawasan Universitas Negeri Padang menunjukkan bahwa 10 sampel yang diisolasi tidak mengandung bakteri *Salmonella* sp. Gambar 1 menunjukkan hasil elektroforesis PCR menunjukan semua sampel tidak berhasil teramplifikasi sesuai dengan gen target 559 bp.

Berdasarkan hasil observasi ke tempat penjualan makanan takjil di kawasan Universitas Negeri Padang bahwa lingkungan tempat berjualan bersih sehingga tidak terdeteksi keberadaan bakteri *Salmonella* sp.

Menurut Mirawati *et al* (2014) keberadaan *Salmonella* pada jajanan berasal dari lingkungan sekitar makanan disajikan dan kebersihan pengolahnya. Berdasarkan hasil observasi diketahui bahwa lingkungan tempat berjualan dekat parit dan tempat sampah, makanan di jajakan tidak berpenutup dan pedagang tidak mencuci tangan terlebih dahulu sebelum menyiapkan makanan sehingga dapat menyebabkan kontaminasi *Salmonella* pada makanan.

Makanan jajanan yang tidak aman dan tidak berkualitas akan membahayakan kesehatan, sehingga dapat menimbulkan masalah kesehatan, khususnya bagi anak usia sekolah; dan pada akhirnya dapat menurunkan kualitas tumbuh kembang anak untuk dapat menjadi sumber daya manusia (SDM) bangsa yang produktif. Bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Vibrio cholera* merupakan bakteri yang sering ditemukan dalam makanan jajanan anak sekolah. Terjadinya kontaminasi mikroorganisme dalam PJAS disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya proses memasak yang tidak sempurna, kurangnya kebersihan dari pedagang/penjamah makanan dan tidak higienisnya peralatan yang dipergunakan untuk menyajikan makanan jajanan (Halimatussa'diah, 2018).



Gambar SEQ Figure * ARABIC 1 Hasil Elektroforesis PCR

Keterangan: M= Marker, A= C(-), B= C(+), 1= tertutup-es teh, 2= tertutup-es timun, 3= terbuka-tahu brontak, 4= tertutup-bakso, 5= terbuka-bakwan, 6= terbuka-sala lauk, 7=terbuka-risol, 8= terbuka-martabak mie, 9= tertutup-klepon, 10= tertutup-kolak.

Keberadaan bakteri *Salmonella* sp dalam makanan sangat berbahaya bagi tubuh. Menurut Goering *et al* (2018) dalam Zain *et al* (2021) apabila manusia mengonsumsi makanan yang terkontaminasi bakteri *Salmonella* maka akan menyebabkan infeksi pada intestinal dengan gejala yang dirasakan yaitu demam, diare, dan kram perut yang berlangsung sekitar seminggu. Bakteri *Salmonella* dapat berkembang dengan baik pada tubuh manusia karena terdapat bantuan sari makanan dan merusak sel tubuh, hal inilah yang mengakibatkan demam, diare, dan kram.

Infeksi salmonellosis terbanyak menenai bayi, balita, dan beberapa orang dewasa dengan gangguan imunitas. Berikut adalah klasifikasi bakteri yang didapat dari isolasi pada feses balita yang terkena diare.

Kingdom : Monera

Divisi : Dsophyta

Class : Suhizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Family : Eubacteriaceae

Genus : *Salmonella*

(Sumber : Pelczar dan Reld dalam Aini (2018))

PENUTUP

Hasil elektroforesis PCR menunjukkan semua sampel tidak berhasil teramplifikasi sesuai dengan gen target 559 bp sehingga semua sampel tidak mengandung bakteri *Salmonella* sp.

REFERENSI

- Aini, Fitratul. 2018. Isolasi dan Identifikasi *Shigella* sp. Penyebab Diare pada Anak. *Bio-site*. Vol. 04 No. 1: 1-40.
- Goering, R. V., Dockrell, H.M., Zuckerman, M., Chiodini, P.L., 2018. *Mim's Medical Microbiology and Immunology*, 6 th. ed. Elsevier.
- Halimatussa'diah, Zahra, dan Athena A. 2018. Kejadian Gastroenteritis dan Faktor Penyebabnya pada Siswa SD. *Jurnal Ekologi Kesehatan* Vol. 17 No 2 : 96 – 104.
- Hermono, B A S, S H Bintari, D Mustikaningtyas. 2017. Identifikasi *Salmonella* sp Pada Jajanan Jus Buah di Kecamatan Gunungpati Semarang dengan PCR. *Jurnal MIPA* 40 (2) (2017): 68-73.
- Khaq, Khanifa Nurul, Lusiawati Dewi. 2016. Deteksi Cemar Bakteri Koliform dan *Salmonella* sp. Pada Tempe yang Dikemas Daun Pisang di Daerah Salatiga. *AGRIC* Vol. 28, No. 1 & No.2, Juli & Desember 2016: 79 – 86.
- Linda et al. 2017. Identifikasi *Salmonella* sp Pada Terasi yang Diperjualbelikan di Pasar Daya Kota Makassar. *Jurnal Media Laboran*, Volume 7, Nomor 2.
- Mirawati, M., Estu Lestari, Husjain Djajaningrat. 2014. Identifikasi *Salmonella* Pada Jajanan yang Dijual di Kantin dan luar Kantin Sekolah Dasar. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, Vol. 1, Nomor 2, Maret 2014, hlm : 141 – 147.
- Zain et al. 2021. Detection of *Salmonella* sp. on Bulk Meatballs and Packaged Meatballs at Sepanjang Market, Sidoarjo. *Journal of Applied Veterinary Science and Technology* 02 (2021): 31-36.