

PCR-based Detection of *Salmonella* sp. Contamination on Takjil Food in
Air Tawar Village Area, North Padang District, Padang City
Deteksi Cemaran *Salmonella* sp. Berbasis PCR Pada Makanan Takjil di
Kelurahan Air Tawar, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang

Nafisa Arini¹⁾, Putri Rachma Aulia¹⁾, Rezi Nabilah¹⁾, Afifatul Achyar¹⁾

¹⁾Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat, Kec. Padang Utara, Kota Padang, Prov. Sumatera Barat, 25131
Email: arreeinn@gmail.com

ABSTRAK

Takjil merupakan makanan atau minuman yang banyak dijual pada bulan Ramadhan untuk berbuka puasa. Takjil biasanya dijual di pinggir jalan raya hingga kios-kios kecil. Takjil yang dijual dipinggir jalan tidak dapat kita jamin kebersihannya, terutama dari kontaminasi mikroba. Mikroba dapat mencemari makanan melalui perantara air, debu, udara, dan alat pengolahan yang menyentuh makanan selama proses produksi atau persiapan. Makanan ini dapat menjadi penyebab penyakit karena telah tercemar oleh bakteri patogen yang tumbuh dan berkembang biak pada makanan, dimana terdapat kemungkinan bakteri tersebut menghasilkan racun yang dapat mengganggu metabolisme manusia. Dalam penelitian ini sampel yang digunakan ada sebanyak sepuluh sampel yang terdiri dari empat makanan dan enam minuman yang diperoleh dari stand penjual makanan yang dipilih secara acak di jalan Gajah, Air Tawar, Kecamatan Padang Utara, provinsi Sumatera Barat. Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi cemaran bakteri *Salmonella* sp. dengan menggunakan teknik PCR. DNA genomik *Salmonella* sp. diekstraksi menggunakan metode Chelex-TE, kemudian diamplifikasi menggunakan primer *Salmonella*-OY-F dan R. Hasil PCR negatif dengan tidak adanya pita fragmen DNA pada gel elektroforesis.

Keywords: Makanan takjil, *Salmonella* sp., PCR

PENDAHULUAN

Selain mengandung gizi yang cukup, makanan yang baik dikonsumsi juga harus terjaga keamanan dan kebersihannya. Menurut data yang dirilis *World Health Organization* (WHO), ada lebih dari 200 jenis penyakit yang diketahui dihantarkan melalui makanan. Diare merupakan salah satu dari penyakit-penyakit tersebut yang menyebabkan kematian pada kurang lebih 1.800.000 orang dan diduga disebabkan oleh air dan makanan yang terkontaminasi oleh mikroorganisme penyebab diare.

Salmonella dan *Shigella* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi pada manusia. *Salmonella* dan *Shigella* dapat mencemari makanan seperti telur mentah,

daging mentah, sayuran segar, dan air yang tercemar (Waluyo, 2005). *Salmonella* dan *Shigella* masuk ke dalam tubuh manusia melalui mulut bersama makanan dan minuman yang tercemar, ditularkan melalui tangan, alat atau serangga, mampu bertahan hidup dalam suasana beku atau kering (Jawetz et al., 2005).

Di dunia, sebagian besar kasus diare yang dihantarkan melalui makanan disebabkan oleh kontaminasi bakteri. *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan bakteri penyebab diare terkait makanan yang paling umum. Bakteri ini diketahui memiliki beberapa patotipe yaitu Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Enteroaggregative *E. coli* (EAEC), Enteroinvasive *E. coli* (EIEC), dan Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) yang juga dikenal sebagai Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC). Diantara kelima patotipe tersebut, ETEC adalah patotipe yang paling banyak ditemukan, diikuti oleh EPEC dan STEC/EHEC.

Sebagai penyakit yang ditransmisikan melalui jalur fekal-oral, penyebaran diare sebagai foodborne disease sangat dipengaruhi oleh kebersihan dalam proses pengolahan makanan. Penjamah makanan (*food handlers*), yang didefinisikan sebagai orang yang secara langsung berhubungan dengan makanan dan peralatan mulai dari tahap persiapan, pembersihan, pengolahan, pengangkutan, sampai dengan penyajiannya, berpotensi menyebabkan kontaminasi pada makanan yang dijamahnya apabila penjamah makanan tersebut tidak menerapkan hygiene dan sanitasi yang baik selama ia bekerja.

Di bulan Ramadhan terdapat fenomena yang hanya ada di bulan Ramadhan yang menjadikan fenomena ini sangat populer yaitu pedagang takjil. Takjil merupakan makanan atau minuman yang banyak dijual pada bulan Ramadhan untuk berbuka puasa. Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI), kata Takjil memiliki arti mempercepat dalam berbuka, sehingga takjil bermakna untuk menyegerakan berbuka puasa yang dilakukan ketika sudah memasuki waktu magrib. Namun menurut Nafisah (2021) Takjil banyak diartikan oleh masyarakat sebagai makanan atau minuman untuk mengawali berbuka puasa (dalam Awaliyah, R. 2021). Takjil biasanya banyak dijual di pinggir jalan raya hingga kios-kios kecil, sehingga sangat mudah untuk dijangkau oleh masyarakat. Namun dibalik kemudahan itu membuat makanan dan minuman yang dijual tidak terjamin kebersihannya karena mudah terpapar dengan lingkungan luar. Selain itu ke higienisannya juga belum terjamin baik dari pembuatan hingga penyajiannya. Sehingga sangat rentan untuk terkontaminasi oleh bakteri.

Salah satu jenis takjil yang digemari oleh sebagian mahasiswa adalah jus buah, dengan pertimbangan harga yang relatif murah, preparasi cepat, dan mudah cara konsumsinya. Menurut SNI (3719:2014), minuman jus buah adalah minuman ringan yang dibuat dari sari buah dan air dengan atau tanpa penambahan gula dan bahan

tambahan makanan yang diizinkan (BSN, 2014). Bahan makanan atau minuman yang memiliki kandungan air tinggi merupakan media yang disenangi bakteri. Beberapa bakteri patogen yang sering ditemukan pada makanan dan minuman adalah golongan Enterobacteriaceae patogen, meliputi *Shigella* sp., *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus* (BPOM RI, 2008).

Pengujian keberadaan *Salmonella* sp. pada makanan dan minuman rutin dilakukan di seluruh dunia. Pengujian secara mikrobiologis dengan cara kultur umum dilakukan untuk mendeteksi *E. coli* dalam sampel makanan atau minuman (Rahmawita dkk, 2018). Kelebihan metode ini memiliki biaya murah, tetapi memiliki kelemahan memerlukan waktu yang lama (\pm 5- 7 hari) sampai mendapatkan hasil positif dan hanya bakteri hidup yang dapat tumbuh (Sudian, 2008). 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. Komponen penting dalam analisis PCR adalah pasangan primer yang sensitif dan spesifik (Achyar dkk, 2021). Namun, metode ini masih memiliki kelemahan biaya yang relatif mahal (Prayoga & Agustin, 2015).

Kelurahan Air Tawar barat merupakan salah satu daerah yang banyak menjual jajanan takjil untuk itulah kami melakukan penelitian terhadap jajanan takjil di daerah Kelurahan Air Tawar Barat untuk mengetahui apakah jajanan takjil tersebut aman dikonsumsi.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolasi menggunakan Chelex-TE dengan subjek penelitian bakteri *Salmonella* sp., penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2022 di Laboratorium Biologi FMIPA UNP.

Isolasi DNA dengan Chelex-TE

Larutan Chelex-TE 10% dibuat dengan menimbang 0,1 gram Chelex kemudian ditambahkan dengan 1 mL TE pH 8.0. Sebanyak 100 μ l larutan Chelex-TE 10% dipipet dengan tip berlubang lebar (wide bore pipette tips) ke dalam microtube 1,5 ml steril. Kemudian 5 μ l Proteinase K (20 mg/ml) ditambahkan ke dalam microtube, lalu dicampurkan dengan tapping bagian bawah microtube dan di-spin down. Setelah itu sampel dimasukkan hingga terendam di dalam larutan chelex-TE-proteinase K. Sampel diinkubasi pada suhu 56°C untuk melisiskan sel selama semalaman. Inkubasi pada suhu 99°C selama 10 menit untuk meng-inaktivasi enzim proteinase K. Sebanyak 1 ul supernatan digunakan untuk PCR. Sisanya disimpan di freezer dengan suhu -20°C.

PCR Deteksi *Salmonella* sp.

Dalam melakukan PCR, hal pertama yang dilakukan adalah memasukkan komponen reaksi PCR yaitu PCR Master Mix, primer spesifik *Salmonella* yaitu *Salmonella*_OY_Fwd 5'-CCGTCTTATCTTGATTGAAGCCG-3' dan primer *Salmonella*_OY_Rev 5'-CGTCATGATATCCGCCCA-3' dengan amplicon berukuran 559 bp (Yuselman, 2021), *Nuclease free water*, dan sampel DNA ke dalam PCR tube sesuai tabel berikut:

Tabel 1. komponen reaksi PCR

Komponen Reaksi	[Awal]	[Akhir]	Volume per tube (µl)	**Jumlah Reaksi	Volume Mix PCR (µl)
PCR Master Mix	2x	1x	5	x13	65
Primer - forward	10µM	0,4µM	0,4	x13	5,2
Primer - reverse	10µM	0,4µM	0,4	x13	5,2
Nuclease-free water	Mencukupkan volume sampai 10µl		3,2	x13	41,6
*Sampel DNA			1	<ul style="list-style-type: none"> ● Vortex dan spin down mix PCR ● Bagi mix PCR @9 µl ke dalam 10 tube PCR yang telah diberi label ● Tambahkan @DNA sampel ● Vortex dan spin down 	
Volume Total					

* Sampel DNA yang digunakan terdiri dari 10 sampel dan 2 kontrol (+ dan -)

** Jumlah reaksi: $10+2=12 + (10\% \times 12) = 12 + 1,2 = 13,2 \sim 13$

Masukkan tabung PCR ke dalam mesin PCR, lalu Run mesin PCR dengan mengatur kondisi suhu dan siklus PCR (program PCR) *Touchdown* PCR patogen sesuai dengan tabel berikut:

Tabel 2. program PCR

Tahap PCR	Suhu (°C)	Durasi	Siklus
Denaturasi awal	95	1 menit	1 x
Denaturasi	95	15 detik	5 x
Annealing	70	15 detik	
Elongasi	72	10 detik	
Denaturasi	95	15 detik	10 x
Annealing*	69-61	15 detik	
Elongasi	72	10 detik	
Denaturasi	95	15 detik	20 x
Annealing	60	15 detik	
Elongasi akhir	72	10 detik	

* Suhu diturunkan 1° setiap siklus

Elektroforesis gel agarose produk PCR

Hasil amplifikasi DNA (amplikon) dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarosa. Konsentrasi agarosa sebesar 1,5 %. Amplikon dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 5 µl yang ditambahkan 1 µl loading dye dan 5 µl GelRed 1:1000. Sebagai penanda ukuran DNA (Marker) digunakan ladder 100 bp. Elektroforesis dijalankan dengan kondisi tegangan 100 V selama 20 menit. Hasil elektroforesis divisualisasi menggunakan GelDoc kemudian didokumentasikan sebagai hasil analisis.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Metode PCR merupakan teknik yang cepat, bersifat sensitif, dan dapat mengamplifikasi beberapa salinan DNA target untuk dapat dideteksi dengan elektroforesis gel. *Salmonella* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, tidak berspora, bersifat anaerob fakultatif dan bergerak dengan flagel peritrik kecuali *Salmonella pullorum* dan *Salmonella gallinarum* (Jawetz *et al.*, 2005). Makanan yang mengandung bakteri seperti *Salmonella* dalam jumlah kecil tidak akan merubah bentuk, warna, rasa dan baunya sedangkan *Salmonella* dalam jumlah yang banyak akan membuat perubahan pada bentuk, warna, rasa dan bau khas yang ditimbulkan bakteri (Mukono, 2000). Makanan yang berasam rendah seperti daging, telur ikan dan produk olahannya merupakan sumber infeksi dan keracunan oleh bakteri. Bakteri anggota genus *Salmonella* merupakan bakteri patogen yang menjadi indikator bahwa makanan tersebut kualitasnya sudah menurun dan apabila tertelan mengakibatkan penyakit saluran pencernaan. Bakteri ini dapat menyebar melalui alat pengolahan yang digunakan kurang higiene dan waktu penyimpanan yang terlalu lama (Dharmojo, 2001).

Menurut Jawetz, E., *et al.* (2005) *Salmonella* sp. Merupakan bakteri yang berbentuk batang lurus, tidak memiliki spora, bersifat gram negatif, sehingga mempunyai komponen outer layer (lapisan luar) yang tersusun dari LPS (lipopolisakarida) dan dapat berfungsi sebagai endotoksin (Muhsinin, S., *et al.* 2019: 191). Nomor serial taksonomi *Salmonella* sp. adalah 302 (ITIS, 2022). Susunan taksonomi dari bakteri *Salmonella* sp. adalah sebagai berikut:

Tabel 3. Hirarki Taksonomi *Salmonella* sp.

Klasifikasi Bakteri <i>Salmonella</i>	
Kingdom	<i>Bacteria</i>
Divisi	<i>Proteobacteria</i>
Kelas	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	<i>Enterobacteriales</i>
Famili	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	<i>Salmonella</i>
Spesies	<i>Salmonella</i> sp.

Dalam penelitian ini kami menggunakan 10 sampel jenis. Deteksi Bakteri *Salmonella* pada jajanan takjil, keberadaan *Salmonella* diawali dengan isolasi DNA menggunakan Chelex-TE, kemudian di amplifikasi menggunakan primer *Salmonella*-OY-F dan

R. Pada isolasi DNA kami menggunakan 10 sampel diantaranya 1. Es teh (G1) 2. Es timun (G2) 3. Es semangka (G3) 4. Es jagung (G4) 5. Kolak pisang (G6) 6. Kolak durian (G7) 7. Mie goreng (G9) 8. Perkedel kentang (G10) 9. Es campur (G8) 10. Es tebu (G5) juga marker (M), kontrol negatif (A) dan kontrol positif (B). Hasil PCR negatif dengan tidak adanya pita fragmen DNA pada pada gel elektroforesis, kecuali pada kontrol positif yang menggunakan DNA Salmonella sebagai DNA cetaknya terdapat pita DNA berukuran 559 bp (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil Elektroforesis menggunakan metode PCR dengan primer Salmonella OY-F- dan R

Makanan yang mengandung bakteri seperti Salmonella dalam jumlah kecil tidak akan merubah bentuk, warna, rasa dan baunya sedangkan Salmonella dalam jumlah yang banyak akan membuat perubahan pada bentuk, warna, rasa dan bau khas yang ditimbulkan bakteri (Mukono, 2000). Makanan yang berasam rendah seperti daging, telur ikan dan produk olahannya merupakan sumber infeksi dan keracunan oleh bakteri. Bakteri anggota genus Salmonella merupakan bakteri patogen yang menjadi indikator bahwa makanan tersebut kualitasnya sudah menurun dan apabila tertelan mengakibatkan penyakit saluran pencernaan. Bakteri ini dapat menyebar melalui alat pengolahan yang digunakan kurang higiene dan waktu penyimpanan yang terlalu lama (Dharmojono, 2001).

Imunitas alami (juga disebut *natural immunity* dan *native immunity*) selalu ada pada individu-individu sehat, dan disiapkan untuk menghambat masuknya mikroba dan untuk mengeliminasi mikroba yang berhasil memasuki jaringan inang (host) secara cepat. Imunitas adaptif (disebut juga imunitas spesifik atau imunitas daptan) memerlukan ekspansi dan diferensiasi limfosit sebagai respon terhadap mikroba sebelum memberikan pertahanan yang efektif. Imunitas ini beradaptasi terhadap adanya invasi mikroba. Pertahanan lini pertama pada imunitas alami dilakukan oleh barrier epitel kulit dan mukosa serta oleh sel dan antibiotik alami yang berada di epitel, yang semuanya berfungsi untuk menghambat masuknya mikroba. Bila mikroba menghancurkan epitel

dan memasuki jaringan atau sirkulasi, mereka diserang oleh fagosit, limfosit spesifik yang disebut sel limfoid alami misalnya sel *Natural Killer* (NK), dan beberapa protein plasma, termasuk protein dari sistem komplemen.

Keseluruhan mekanisme imunitas alami ini secara spesifik mengenali dan bereaksi terhadap mikroba. Selain memberikan pertahanan awal terhadap infeksi, respon imun alami meningkatkan respon imun adaptif terhadap agen-agen infeksius. Sistem imun adaptif terdiri atas limfosit dan produk-produknya, misalnya antibodi.

Respon imun adaptif terutama penting terhadap pertahanan mikroba infeksius yang bersifat patogenik terhadap manusia (yaitu dapat menyebabkan penyakit) dan mampu melawan imunitas alami. Sementara mekanisme imunitas alami mengenali struktur-struktur yang sama-sama dimiliki oleh berbagai kelas mikroba, sel-sel imunitas adaptif (limfosit), mengekspresikan reseptor yang secara spesifik mengenali berbagai molekul yang diproduksi oleh mikroba serta molekul-molekul non infeksius.

Setiap bahan yang secara spesifik dapat dikenali oleh limfosit dan antibodi disebut antigen. Respon imun adaptif seringkali menggunakan sel-sel serta molekul dari sistem imun alami untuk mengeliminasi mikroba, dan fungsi imunitas adaptif untuk memperkuat mekanisme antimikroba imunitas alami.

Dua tipe reaksi utama terhadap sistem imun alami adalah inflamasi dan pertahanan anti-virus. Inflamasi terdiri dari akumulasi dan aktivasi leukosit dan protein plasma pada lokasi infeksi atau kerusakan jaringan. Sel-sel dan protein tersebut bertindak bersama untuk membunuh terutama mikroba ekstraseluler dan eliminasi jaringan yang rusak. Pertahanan imun alami terhadap virus intraseluler diperantarai oleh sel *Natural Killers* (NK) yang membunuh sel yang terinfeksi virus dan oleh sitokin yang disebut interferon tipe 1 yang menghambat replikasi virus di dalam sel inang. Sistem imun alami memberi respon yang sama terhadap pertemuan kembali dengan sebuah mikroba, sedangkan sistem imun adaptif berespons lebih efisien pada tiap pertemuan kembali dengan suatu mikroba. Dengan kata lain sistem imun alami tidak mengingat pertemuan pertama dengan mikroba dan akan kembali ke dasar setelah setiap pertemuan, sehingga memori merupakan gambaran utama pada sistem imun adaptif. Sistem imun adaptif menggunakan strategi berikut untuk memerangi sebagian besar mikroba:

1. Antibodi yang disekresi akan mengikat mikroba ekstraseluler, menghambat kemampuan mereka untuk menginfeksi sel inang dan merangsang penelanan serta penghancuran oleh fagosit.
2. Fagosit menelan mikroba dan membunuh mereka, dan sel T helper memperkuat kemampuan mikrobisidal fagosit.
3. Sel T helper mengerahkan leukosit untuk menghancurkan mikroba dan meningkatkan fungsi pertahanan epitel untuk mencegah masuknya mikroba. Limfosit T sitotoksik membunuh sel yang terinfeksi mikroba.

4. Respon imun adaptif berkembang dalam tahapan-tahapan, yang masing-masing sesuai dengan reaksi tertentu limfosit.

PENUTUP

Dari hasil penelitian yang kami lakukan dengan 10 sampel jajanan takjil di kawasan Kelurahan Air Tawar, Kec. Padang Utara, Kota Padang dengan Metode PCR tidak terdapat satupun sampel yang terdeteksi mengandung Salmonella. Hal ini menunjukkan bahwa makanan takjil di sekitar Jalan Gajah, Air Tawar, Kec. Padang Utara aman dikonsumsi.

REFERENSI

Achyar A, Putri AI, Putri DH, Ahda Y. 2021. Primer design, in silico PCR and optimum annealing temperature for Escherichia coli detection in refillable drinking water samples. *Tropical Genetics*. 1 (2): 52-60.

Awaliyah, R. (2021, April). The Phenomenon of Sharing Takjil in the Month of Ramadan in Indonesia: Study of Ma'anil Hadith. In Gunung Djati Conference Series (Vol. 4, pp. 493-506).

[BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. Pengujian mikrobiologi pangan. *Journal Info POM* 9 (1).

[BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2014. SNI. 37192014: *Minuman sari buah*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional

Dharmojono. 2001. *Penyakit Tipus (Salmonella) dalam Penyakit Menular Dari Binatang ke Manusia*, Edisi Pertama, Millennia Popular, Jakarta.

ITIS, Salmonella., 2022. www.itis.gov. <https://doi.org/10.5066/F7KH0KKBK>. (Accessed 6 June 2022).

Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. *Mikrobiologi Kedokteran*, Jakarta: EGC; 2005.

Kirk M., Pires S., Black R., Caipo M., Crump J., Devleeschauwer B., Dofer, D., Fazil, A., Fischer-Walker, C., Hald, T., Hall, A., Keddy, K., Lake R., Lanata C., Torgerson, P., Havelaar, A., dan Angulo, F. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLoS Med*. 2015; 12(12):7- 11.

Muhsinin, S., Sulastri, M. M., & Supriadi, D. (2019). Deteksi Cepat Gen InvA pada *Lestarian Alam Raya dalam Berkarya Melalui Indonesia SDGs Menuju Human Welfare* 453

Salmonella spp. Dengan Metode PCR. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5(3), 191-200.

Mukono, H.J. 2000. *Prinsip Dasar Kesehatan Lingkungan*. Surabaya : Airlangga.

Yuselman, O., 2021. *Desain Primer dan Optimasi Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) Spesifik Salmonella sp. untuk Pengembangan Metode Deteksi Patogen pada Sampel Air Minum Isi Ulang* (Doctoral dissertation, Universitas Negeri Padang).

Prayoga W, & Agustin K.W. 2015. Polymerase Chain Reaction untuk deteksi Salmonella sp. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2): 438-488

Rahmawita R, Putri DH, Advinda L. 2018. Kualitas Jajanan Anak Sekolah Dasar Secara Mikrobiologi Di Kecamatan Koto Tangah Padang Sumatera Barat. *Biomedika*. 10 (2): 102-106.

Sudian S. 2008. Pengujian mikrobiologi pangan. *Jurnal Info POM* 9(2): 1-9

World Health Organization. *Five Keys to Safer Food Manual*. France: WHO Press, 2006.
Diunduh dari: <http://www.who.int/foodsafety/publications/5keysmanual/en/>.
(diakses 18 Januari 2016).