

# **Deteksi Molekuler *Salmonella* sp pada Minuman Es Teh yang Dijual di Kota Yogyakarta**

## **Skripsi**



**DANIEL RIDWAN ARIF SAPUTRA**

**31110006**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2015**

# **Deteksi Molekuler *Salmonella* sp pada Minuman Es Teh yang Dijual di Kota Yogyakarta**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana



**DANIEL RIDWAN ARIF SAPUTRA**  
**31110006**

**Program Studi Biologi**  
**Fakultas Bioteknologi**  
**Universitas Kristen Duta Wacana**  
**Yogyakarta**  
**2015**

## Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

Deteksi Molekuler *Salmonella* sp pada Minuman Es Teh yang Dijual di Kota Yogyakarta

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

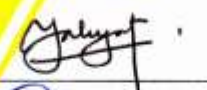
**DANIEL RIDWAN ARIF SAPUTRA**  
**31110006**

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Sains pada tanggal **11 September 2015**

**Nama Dosen**

**Tanda Tangan**

1. Dr. Charis Amarantini, M.Si.  
(Dosen Pembimbing I / Dosen Penguji / Ketua Tim)
2. Tri Yahya Budiarso, S.Si., M.P.  
(Dosen Pembimbing II / Dosen Penguji)
3. Dr. Dhira Satwika, M.Sc.  
(Dosen Penguji)



**DUTA WACANA**

**Yogyakarta, September 2015**  
**Disahkan Oleh:**

Dekan,

Ketua Program Studi,



Drs. Kisworo, M.Sc.



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.

## LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Daniel Ridwan Arif Saputra

NIM : 31110006

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

### **Deteksi Molekuler *Salmonella* sp pada Minuman Es Teh yang Dijual di Kota Yogyakarta**

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 13 Oktober 2015



Daniel Ridwan Arif Saputra

## PRAKATA

Segala hormat, puji, dan syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas semua berkat, perlindungan, dan bimbingan yang senantiasa tercurah bagi penulis dalam proses pembuatan skripsi ini, sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian, penulisan naskah dengan lancar. Penulis mempersembahkan skripsi yang berjudul **“Deteksi Molekuler *Salmonella* sp pada Minuman Es Teh yang Dijual di Kota Yogyakarta”** ini untuk kemuliaan nama Yesus Kristus yang telah membantu penulis hingga saat ini. Skripsi tersebut dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Industri, Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana guna memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.

Penulis menyadari dalam pembuatan skripsi ini sangat sulit bila tidak dibantu oleh berbagai pihak yang ada disekitar penulis yang senantiasa memberikan motivasi berupa semangat dan bimbingan. Penulis sangat berterima kasih kepada yang terhormat:

1. Drs. Kisworo, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.
2. Dr. Charis Amarantini, M.Si. selaku Dosen Pembimbing dan Dosen Wali Angkatan 2011 yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, dan arahan dengan sabar dan baik, sehingga penulis mampu menyelesaikan studi dan skripsi ini hingga mendapatkan gelar S.Si.
3. Tri Yahya Budiarmo, S.Si, M.P., selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan arahan dan bimbingan dari awal pembuatan skripsi hingga pada akhirnya selesai dengan baik.
4. Dr. Dhira Satwika, M.Sc., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan pada saat ujian skripsi dan penulisan naskah hingga selesai dengan baik.
5. Seluruh Dosen dan Staf Fakultas Bioteknologi yang telah memberikan bantuannya selama penulis menyelesaikan masa studi selama 4 tahun ini. Terima kasih telah bersedia direpotkan oleh penulis selama ini.
6. Seluruh Laboran Laboratorium Fakultas Bioteknologi : Mas Hari (Pak Day), Mbak Retno, Mas Setyo, Mas Muji, Om Is, dan juga Bu Dewi (kakak Dewi tercinta) yang telah membantu, membimbing, dan bersedia direpotkan penulis selama melaksanakan penelitian di Laboratorium.
7. Kedua orang tua penulis Timotius Suyandi (Papi), Tan Ruth Yenni N (Mami), Maria Devina S. (adik) dan seluruh keluarga besar yang telah senantiasa memberikan dukungan

semangat, doa, materi, dan kasih sayang selama ini sehingga penulis sanggup menyelesaikan pembuatan skripsi ini hingga selesai.

8. Teman-teman seperjuangan saat melakukan penelitian di laboratorium: Agnes, Ica, Meri, Sari, Dircia, Ilona, Merta yang telah berjuang bersama dari awal penelitian hingga selesainya skripsi.
9. Teman-teman sekaligus sahabat yang lain yaitu Biotek '11 yaitu Nike, Yolanda, Nelly, Ita, Gebi, Steve, Obet, Teo, Patrick, Vivie, Mona, Lidia, Indah, Nuci, dan Nonti yang bersama-sama berjuang menuntut ilmu selama 4 tahun di Fakultas Bioteknologi. Terima kasih atas kebersamaan, keceriaan, suka dan duka selama berkuliah dan tinggal di Yogyakarta.
10. Pihak-pihak lain yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, terima kasih atas semuanya yang telah kalian berikan kepada penulis.

Penulis menyadari dalam pembuatan, penulisan, dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari kesalahan. Penulis meminta maaf yang sedalam-dalamnya kepada berbagai pihak jikalau dalam penulisan skripsi ini banyak kesalahan yang diperbuat. Penulis sangat berterima kasih dan berharap jika ada saran maupun kritik yang membangun mengenai skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat umum maupun dalam dunia akademik.

Yogyakarta, 18 September 2015

Penulis

# DAFTAR ISI

## Halaman

|                                                                          |        |
|--------------------------------------------------------------------------|--------|
| HALAMAN JUDUL.....                                                       | i      |
| HALAMAN PENGESAHAN.....                                                  | ii     |
| HALAMAN PERNYATAAN.....                                                  | iii    |
| PRAKATA.....                                                             | iv     |
| DAFTAR ISI.....                                                          | vi     |
| DAFTAR TABEL.....                                                        | vii    |
| DAFTAR GAMBAR.....                                                       | viii   |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                                                     | ix     |
| ABSTRAK.....                                                             | x      |
| ABSTRACT.....                                                            | xi     |
| <br>BAB I. PENDAHULUAN.....                                              | <br>1  |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....                                            | 4      |
| A. Gambaran Umum Pedagang Kaki Lima.....                                 | 4      |
| B. Sumber Kontaminasi Es Teh.....                                        | 5      |
| C. Mikroorganisme Penyebab Kontaminasi.....                              | 5      |
| D. Karakteristik <i>Salmonella</i> sp.....                               | 6      |
| E. Metode Deteksi <i>Salmonella</i> sp Secara Konvensional.....          | 7      |
| F. Deteksi <i>Salmonella</i> sp Secara Molekuler.....                    | 9      |
| BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....                                      | 11     |
| A. Waktu dan Tempat.....                                                 | 11     |
| B. Bahan.....                                                            | 11     |
| C. Alat.....                                                             | 11     |
| D. Metode Penelitian.....                                                | 12     |
| E. Tahap Penelitian.....                                                 | 13     |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....                                        | 16     |
| A. Kualitas Minuman Es Teh yang Dijual oleh Pedagang Kaki Lima.....      | 16     |
| B. Deteksi Cemarkan <i>Salmonella</i> sp dengan Metode Konvensional..... | 17     |
| C. Identifikasi Secara Molekuler <i>Salmonella</i> sp.....               | 22     |
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....                                         | 26     |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                                      | 27     |
| <br>LAMPIRAN.....                                                        | <br>30 |

## DAFTAR TABEL

### Halaman

|          |                                                                                             |    |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABEL 1. | Hasil deteksi spesies <i>Salmonella</i> sp pada medium TSIA.....                            | 9  |
| TABEL 2. | Hasil penghitungan koloni <i>coliform</i> pada medium CCA menggunakan metode enumerasi..... | 16 |
| TABEL 3. | Jumlah isolat negatif urea dari total keseluruhan isolat yang diperoleh.....                | 19 |
| TABEL 4. | Kandidat kelompok <i>Salmonella</i> sp yang diisolasi dari medium CCA.....                  | 21 |



## DAFTAR GAMBAR

### Halaman

|           |                                                                                                                                                                                |    |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| GAMBAR 1. | Bagan alir proses penelitian.....                                                                                                                                              | 12 |
| GAMBAR 2. | Tipikal koloni yang diperoleh dari sampel setelah ditumbuhkan kedalam medium <i>Chromocult Coliform Agar</i> (CCA).....                                                        | 18 |
| GAMBAR 3. | Pengamatan perubahan warna pada medium selektif <i>urea broth</i> .....                                                                                                        | 19 |
| GAMBAR 4. | Beberapa macam koloni dari isolat yang memiliki tipikal negatif urea pada medium TSIA.....                                                                                     | 20 |
| GAMBAR 5. | Tipikal koloni <i>Salmonella</i> sp pada medium <i>Salmonella Shigella Agar</i> (SSA)...                                                                                       | 21 |
| GAMBAR 6. | Hasil PCR isolat kandidat <i>Salmonella</i> sp dan beberapa isolat kandidat lain dari sampel menggunakan penanda gen <i>invA</i> dan <i>spvC</i> secara <i>multiplex</i> ..... | 23 |
| GAMBAR 7. | Hasil PCR isolat kandidat <i>Salmonella</i> sp dan beberapa isolat kandidat lain dari sampel menggunakan penanda gen <i>spvC</i> secara <i>simpel</i> PCR.....                 | 24 |

## DAFTAR LAMPIRAN

### Halaman

|             |                                                        |    |
|-------------|--------------------------------------------------------|----|
| LAMPIRAN 1. | Komposisi media yang digunakan untuk identifikasi..... | 30 |
| LAMPIRAN 2. | Langkah kerja penelitian.....                          | 32 |
| LAMPIRAN 3. | Langkah isolasi DNA.....                               | 33 |

©UKPDW

# Deteksi Molekuler *Salmonella* sp pada Minuman Es Teh yang Dijual di Kota Yogyakarta

DANIEL RIDWAN ARIF SAPUTRA

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

## ABSTRAK

Minuman es teh banyak disukai oleh berbagai lapisan masyarakat dan banyak ditemukan pada setiap warung yang menjual makanan di Yogyakarta. Berdasarkan cara pembuatan dan penyajiannya, minuman es teh mudah terkontaminasi bakteri. Beberapa bakteri sering ditemukan diantaranya kelompok *coliform* dan *Salmonella* sp. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi ada tidaknya cemaran *Salmonella* sp pada produk minuman teh yang dijual di kota Yogyakarta melalui deteksi gen *invA* dan *spvC*. Deteksi dilakukan dengan metode enumerasi serta identifikasi menggunakan uji biokimiawi serta molekuler dengan penanda gen *invA* dan *spvC* yang mengamplifikasi DNA pada panjang 284 bp dan 571 bp. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tingkat cemaran *coliform* berada di atas ambang batas yang ditetapkan pemerintah yaitu sebesar  $1,1 \times 10^4$  CFU/ml –  $7,8 \times 10^4$  CFU/ml, bahkan 6 dari 15 sampel atau 40% total sampel yang diambil terbukti terkontaminasi *Salmonella* sp. Tipikal isolat terduga *Salmonella* sp yang diperoleh melalui pengujian biokimia memiliki kemiripan dengan *Salmonella* sp spesies *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Typhi, dan *Salmonella* Typhimurium. Hasil pengujian secara molekuler menggunakan *multiplex* PCR, ketiga isolat tersebut positif memiliki gen virulensi *invA* dan *spvC* yang menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut patogen.

**Kata Kunci:** Es teh, *Salmonella* sp, Yogyakarta, *invA* dan *spvC*

# Molecular Detection of *Salmonella* sp on Ice Tea Which was Sold in Yogyakarta

DANIEL RIDWAN ARIF SAPUTRA

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

## ABSTRACT

People from various levels of society like iced tea and it can be easily bought at any food vendors in Yogyakarta. Based on the way of manufacturing and serving process, iced tea is easily contaminated with bacteria. Frequently, the bacteria, that are found in it, are from *coliform* and *Salmonella* sp groups. This study attempts to detect the *Salmonella* sp contamination in iced tea that been sold in Yogyakarta using *invA* and *spvC* gene. The detection process are conducted by using the enumeration and biochemical assay, while molecular identification process are conducted by using *invA* and *spvC* gene markers which amplify genes on 284 bp and 571 bp. The result shows that the contamination level of *coliform* is  $1.1 \times 10^4$  CFU/ml –  $7.8 \times 10^4$  CFU/ml which is above the authorities standard and even 6 of 15 samples or 40% of total samples were contaminated by *Salmonella* sp. Typical *Salmonella* sp suspected isolates, which is tested using biochemical assays, have the resemblance of *Salmonella* sp, *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Typhi, and *Salmonella* Typhimurium. Using the Multiplex PCR for molecular test, all of that three isolates are having the *invA* and *spvC* virulence genes, which indicates that all of them are pathogenic.

**Keywords:** Ice tea, *Salmonella* sp, Yogyakarta, *invA* and *spvC*

# Deteksi Molekuler *Salmonella* sp pada Minuman Es Teh yang Dijual di Kota Yogyakarta

DANIEL RIDWAN ARIF SAPUTRA

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

## ABSTRAK

Minuman es teh banyak disukai oleh berbagai lapisan masyarakat dan banyak ditemukan pada setiap warung yang menjual makanan di Yogyakarta. Berdasarkan cara pembuatan dan penyajiannya, minuman es teh mudah terkontaminasi bakteri. Beberapa bakteri sering ditemukan diantaranya kelompok *coliform* dan *Salmonella* sp. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi ada tidaknya cemaran *Salmonella* sp pada produk minuman teh yang dijual di kota Yogyakarta melalui deteksi gen *invA* dan *spvC*. Deteksi dilakukan dengan metode enumerasi serta identifikasi menggunakan uji biokimiawi serta molekuler dengan penanda gen *invA* dan *spvC* yang mengamplifikasi DNA pada panjang 284 bp dan 571 bp. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tingkat cemaran *coliform* berada di atas ambang batas yang ditetapkan pemerintah yaitu sebesar  $1,1 \times 10^4$  CFU/ml –  $7,8 \times 10^4$  CFU/ml, bahkan 6 dari 15 sampel atau 40% total sampel yang diambil terbukti terkontaminasi *Salmonella* sp. Tipikal isolat terduga *Salmonella* sp yang diperoleh melalui pengujian biokimia memiliki kemiripan dengan *Salmonella* sp spesies *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Typhi, dan *Salmonella* Typhimurium. Hasil pengujian secara molekuler menggunakan *multiplex* PCR, ketiga isolat tersebut positif memiliki gen virulensi *invA* dan *spvC* yang menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut patogen.

**Kata Kunci:** Es teh, *Salmonella* sp, Yogyakarta, *invA* dan *spvC*

# Molecular Detection of *Salmonella* sp on Ice Tea Which was Sold in Yogyakarta

DANIEL RIDWAN ARIF SAPUTRA

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

## ABSTRACT

People from various levels of society like iced tea and it can be easily bought at any food vendors in Yogyakarta. Based on the way of manufacturing and serving process, iced tea is easily contaminated with bacteria. Frequently, the bacteria, that are found in it, are from *coliform* and *Salmonella* sp groups. This study attempts to detect the *Salmonella* sp contamination in iced tea that been sold in Yogyakarta using *invA* and *spvC* gene. The detection process are conducted by using the enumeration and biochemical assay, while molecular identification process are conducted by using *invA* and *spvC* gene markers which amplify genes on 284 bp and 571 bp. The result shows that the contamination level of *coliform* is  $1.1 \times 10^4$  CFU/ml –  $7.8 \times 10^4$  CFU/ml which is above the authorities standard and even 6 of 15 samples or 40% of total samples were contaminated by *Salmonella* sp. Typical *Salmonella* sp suspected isolates, which is tested using biochemical assays, have the resemblance of *Salmonella* sp, *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Typhi, and *Salmonella* Typhimurium. Using the Multiplex PCR for molecular test, all of that three isolates are having the *invA* and *spvC* virulence genes, which indicates that all of them are pathogenic.

**Keywords:** Ice tea, *Salmonella* sp, Yogyakarta, *invA* and *spvC*

## BAB I PENDAHULUAN

Minuman es teh adalah salah satu jenis minuman yang selalu dapat ditemukan pada setiap warung yang menjual makanan di Yogyakarta. Diantara minuman yang tersedia di warung makan, es teh merupakan minuman yang sering dikonsumsi oleh berbagai lapisan masyarakat. Yogyakarta sebagai kota pelajar dan mahasiswa banyak ditemukan warung makan dan tempat-tempat jajanan atau pedagang kaki lima yang selalu menyediakan minuman. Yogyakarta identik dengan kehidupan yang sederhana dan tidak terlepas dari warung makan yang banyak dijumpai di kampung-kampung maupun pinggir jalan yaitu Pedagang Kaki Lima. Saat ini warung makan banyak dijumpai di sepanjang wilayah di kota Yogyakarta dan lebih banyak berada di sekitar sekolah maupun universitas. Harga yang relatif murah dan rasa yang manis dan dingin membuat minuman es teh menjadi favorit bagi banyak masyarakat Yogyakarta, pelajar dan mahasiswa maupun wisatawan yang berkunjung ke Yogyakarta.

Minuman es teh terbuat dari teh yang diseduh dengan air panas dicampur gula kemudian setelah dingin ditambahkan es batu kemudian disajikan kekonsumen. Berdasarkan survey di lapangan, menunjukkan bahwa pedagang kaki lima yang umumnya berjualan pada saat menjelang sore hingga larut malam merupakan tempat yang paling banyak dikunjungi pembeli. Letak tempat berjualan yang dekat dengan lalu lintas kendaraan bermotor membuat makanan maupun minuman menjadi kurang higienis. Selain itu air yang digunakan untuk mencuci jarang untuk diganti, debu dari lingkungan tempat berjualan, air yang digunakan untuk memasak dan membuat minuman, peralatan yang tidak dicuci dengan bersih, kebersihan dari para pekerja, dan es batu yang terkontaminasi oleh bakteri disebabkan penggunaan air yang belum masak menjadi konsentrasi utama penyebaran penyakit kepada konsumen (Vollaard *et al.*, 2004). Perilaku seperti ini memungkinkan banyak bakteri dapat mengontaminasi minuman tersebut yang akan membuat kesehatan konsumen terganggu seperti dapat menyebabkan diare dan mual. Kesadaran mengenai kesehatan dan standar keamanan makanan dan minuman tersebut memang masih kurang diperhatikan oleh pedagang sendiri.

Menurut pengamatan banyak terjadi kasus kontaminasi yang berkaitan dengan bahan baku pembuatan es teh itu sendiri, yaitu air dan es batu yang digunakan. Beberapa penelitian mengatakan bahwa air dan es batu yang digunakan tercemar dengan banyak jenis bakteri yang termasuk dalam golongan *coliform* (Hariyadi dan Hartini, 2006; Izani *et al.*, 2011; Susanna *et al.*, 2010). Restoran cepat saji yang ada di Florida juga terbukti positif terkontaminasi *E. coli* yang berasal dari feses manusia pada es batu yang digunakan. Minuman es teh yang ada di wilayah Yogyakarta telah diteliti dan ditemukan cemaran *coliform* pada minuman tersebut

(Rosana, 2007). Selain itu sebuah penelitian juga mengatakan bahwa restoran atau pedagang kaki lima yang berada di wilayah Jakarta sebagian besar terdapat kontaminasi beberapa bakteri termasuk golongan *Salmonella* sp (Vollaard *et al.*, 2004).

Berdasarkan pengamatan dapat diketahui bahwa sebagian pembuat es batu menggunakan air dari sumber yang tidak diketahui adanya kontaminasi dan kebersihan dari air yang digunakan. Tidak hanya itu, kontaminasi silang juga dapat dipengaruhi dari berbagai faktor seperti seringnya pedagang mencuci alat memasak, piring, dan gelas dengan air yang hanya ditampung di dalam ember saja tanpa membersihkannya dengan baik, lap yang digunakan dapat menimbulkan penumpukan bakteri dan membuat alat yang telah bersih menjadi terkontaminasi, es batu yang digunakan biasanya dalam bentuk bongkahan besar yang diharuskan untuk memecah menjadi ukuran yang lebih kecil dan alat yang digunakan adalah palu yang telah digunakan berkali-kali dan terkadang tidak dibersihkan terlebih dahulu.

Terlepas dari kontaminasi silang melalui alat yang digunakan, bahan baku juga menjadi kunci utama terjadinya kontaminasi. Meskipun minuman ini dibuat menggunakan air panas untuk menyeduhkannya dan juga es batu yang sebagian besar orang mengatakan bahwa pada suhu dingin atau beku semua atau sebagian besar bakteri dalam keadaan mati atau inaktif tidak akan membuat penyakit bagi konsumen, tetapi pendapat tersebut tidak sepenuhnya benar. Salah satu bakteri yang mampu hidup dalam suhu yang rendah adalah *Salmonella* sp. Bakteri ini memiliki tingkat toleransi yang cukup tinggi terhadap suhu. Suhu yang baik untuk bakteri tersebut berkembang biak pada 5 - 47°C dengan suhu optimal pada 35 - 37°C. Meskipun demikian beberapa *Salmonella* sp dapat bertahan hidup hingga suhu -23°C dalam keadaan beku (Hariyadi, 2006).

Beberapa kasus telah terjadi berkaitan dengan kontaminasi *Salmonella* sp di negara maju maupun berkembang. Di tahun 1997, sekitar 8.901 kasus berkaitan dengan demam tifoid di Dushanbe, Tajikistan dari kontaminasi oleh *Salmonella* sp pada air di perkotaan. Selain itu, dekat dengan Karachi, Pakistan dikabarkan 300 orang terinfeksi akibat mengonsumsi air sumur yang menjadi sumber utama di wilayah tersebut. Selama Maret hingga April 2008 juga dilaporkan terjadinya infeksi oleh *Salmonella* sp yang mengakibatkan 442 orang mengalami sakit, diantaranya 122 orang terbukti positif, dan 1 orang mengalami kematian di Colorado akibat mengonsumsi air minum di lingkungan tersebut (Berg, 2008; Farooqui *et al.*, 2009; Mermin *et al.*, 1999).

Berdasarkan cara penyajian dan pembuatan minuman es teh, maka sangat dimungkinkan minuman es teh tercemar oleh bakteri *coliform* terkhusus golongan *Salmonella* sp. Melihat tingkat cemaran yang dapat terjadi cukup tinggi maka diperlukan adanya deteksi cemaran pada minuman es teh yang dijual oleh pedagang kaki lima di wilayah Yogyakarta untuk memberikan



gambaran spesifik mengenai kontaminasi *Salmonella* sp pada minuman es teh. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kualitas minuman es teh serta mendeteksi cemaran *Salmonella* sp pada minuman es teh yang dijual oleh pedagang kaki lima di Yogyakarta menggunakan penanda gen *invA* dan *spvC*.

Manfaat yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah memberi gambaran cemaran mikrobial terkhusus *Salmonella* sp pada minuman es teh yang dijual oleh pedagang kaki lima di wilayah Yogyakarta. Selain itu juga dapat memberikan rekomendasi kepada konsumen untuk lebih berhati-hati dalam mengonsumsi es teh yang dijual agar dapat meminimalisir resiko sakit. Bagi para penjual dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan untuk menjaga kualitas, kebersihan, dan keamanan pangan yang mereka jual dengan cara menjaga kebersihan alat dan juga penggunaan bahan baku air sehingga dapat mengurangi kontaminasi silang dari produk yang dihasilkan. Metode yang diterapkan dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi dalam melakukan identifikasi bakteri terkhusus golongan *Salmonella* sp pada berbagai macam produk pangan dengan melakukan analisis secara molekuler yang mampu menghasilkan data yang cepat, akurat, dan tepat pada organisme yang dituju.

## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

Sampel minuman es teh yang dijual oleh pedagang kaki lima di Yogyakarta memiliki kualitas yang cukup buruk dengan tingkat kontaminasi *coliform* sebesar  $1,1 \times 10^4$  CFU/ml –  $7,8 \times 10^4$  CFU/ml, bahkan 6 dari 15 sampel atau 40% terbukti positif terkontaminasi *Salmonella* sp. Melalui uji biokimiawi dan deteksi molekuler menggunakan gen penanda *invA* dan *spvC* ditemukan beberapa variasi tipikal isolat *Salmonella* sp yang mengontaminasi diantaranya kandidat *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Typhi, dan *Salmonella* Typhimurium. Ketiga isolat tersebut positif memiliki gen virulensi *invA* dan *spvC* yang menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut patogen. Kepada pedagang perlu meningkatkan higienitas makanan maupun minuman yang dijual. Diperlukan metode pencucian alat yang baik untuk menghindari kontaminasi silang dari air cucian, ataupun alat sebelumnya. Bahan baku yang dipakai untuk menyeduh teh dan pembuatan es batu perlu dijaga dan dicek kualitasnya oleh sebab dugaan disebabkan kontaminasi terbesar berasal dari air yang digunakan. Bakteri yang diperoleh dari sampel dan diduga kandidat *Salmonella* sp perlu dilanjutkan sampai pada tahap *sequencing* untuk mengetahui identitas dan kekerabatannya dengan kelompok dari jenis *Salmonella* sp patogenik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atlas RM. 1997. *Principles of Microbiology*. 1<sup>st</sup> Edition. Win.C.Brown Publ. Dubuque. Iowa.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan. SNI 7388:2009.
- Berg R. 2008. The Alamosa *Salmonella* outbreak: A gumshoe investigation. *J Environ Health*. 71(2):54-58.
- Burgess F, Little CL, Allen G, Williamson K, Mitchell RT. 2004. Prevalence of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* on The External Packaging of Raw Meat. *J Food Prot*. 68:469-475.
- Chiu CH, Jonathan T OU. 1996. Rapid Identification of *Salmonella* Serovars in Feces by Specific Detection of Virulence Genes, *invA* and *spvC*, by an Enrichment Broth Culture-Multiplex PCR Combination Assay. *J Clinical Microbiol*. 34(10): 2619-2622.
- Cliver DO, Doyle MP. 1990. Foodborne Disease. Academic Press, Inc. San Diego.
- Fardiaz S, 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Farooqui A, Khan A, Kazumi SU. 2009. Investigation of a Community Outbreak of Typhoid Fever Associated With Drinking Water. *BMC Public Health*, 9(467), doi:10.1186/147-2458-9-476.
- Galan JE, Curtiss III R. 1991. Distribution of the *invA*, -B, -C and -D Genes of *Salmonella* Typhimurium among Other *Salmonella* Serovars: *invA* Mutants of *Salmonella* Typhi are Deficient for Entry into Mammalian Cells. *American Society for Microbiology*. 59(9):2901-2908.
- Hariyadi RD, Hartini US. 2006. Keberadaan dan Perilaku *Salmonella* dalam Es Batu; Seminar Nasional PATPI. Yogyakarta, 2-3 Agustus 2006 [Indonesian]
- Handoyo D, Rudiretna. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Unitas*. 9(1):17-29.
- Izani NJN, Zulaikha AR, Noor MRM, Amri MA, Mahat NA. 2012. Contamination of Faecal Coliforms in Ice Cubes Sampled From Food Outlet in Kubang Keriang, Kelantan. *Tropical Biomedicine*. 29(1):71-76.
- Jenikova G, Pazlarova J, Demnerova. 2000. Detection of *Salmonella* in food samples by the combination of immunomagnetic separation and PCR assay. *International Microbiol*. 3:225-229.
- Klein D. 2002. Quantification Using real-time PCR Technology: Applications and Limitations. *Trends in Molecular Medicine*. 8(6):257-260.
- Lampel KA, Orlandi PA, Kornegay L. 2000. Improved Template Preparation for PCR-Based Assays for Detection of Foodborne Bacterial Pathogens. *Appl Environ Microbiol*. 66(10): 4539-4542.
- Law JWF, Ab Mutalib NS, Chan KG, Lee LH. 2015. Rapid Methods for the Detection of Foodborne Bacterial Pathogens: Principles, Applications, Advantages and Limitations. *Frontiers in Microbiology*. Doi:10.3389/fmicb.2014.00770.

- Lawrie, RA. 1979. *Meat Science*. 3rd ed. Pergamon Press. New York.
- Levantesi C, Bonadonna L, Briancesco R, Grohmann E, Toze S, Tandoi Valter. 2012. *Salmonella* in surface and drinking water: Occurrence and water-mediated transmission. *Food Research International*. 45:587-602.
- Li Q, Cheng W, Zhang D, Yu T, Yin Y, Ju H, Ding S. 2012. Rapid and Sensitive Strategy for *Salmonella* Detection Using an *invA* Gene-based Electrochemical DNA Sensor. *Int. J. Electrochem. Sci.* 7:844-856.
- Lin CL, Chiu CH, Chu C, Huang YC, Lin TY, OU JT. 2007. A Multiplex Polymerase Chain Reaction Method for Rapid Identification of *Citrobacter freundii* and *Salmonella* species, including *Salmonella* Typhi. *J Microbiol Immunol Infect.* 40:222-226.
- Lindberg AA, Le Minor L. 1984. Serology of *Salmonella*. In: *Methods in Microbiology*. Academic Press London. United Kingdom.
- Lindstrom M, Keto R, Markkula A, Nevas M, Hielm S, Korkeala H. 2001. Multiplex PCR Assay for Detection and Identification of *Clostridium botulinum* types A, B, E, and F in Food and Fecal Material. *Appl Environ Microbiol.* 67(12):5694-5699.
- Malorny B, Hoorfar J, Bunge C, Helmuth R. 2003. Multicenter Validation of the Analytical Accuracy of *Salmonella* PCR: towards an International Standard. *Appl Environ Microbiol* 69(1):290-296.
- Mandal PK, Biswas AK, Choi K, Pal UK. 2011. Methods for Rapid Detection of Foodborne Pathogens: an overview. *American J Food Tech.* 6:87-102.
- Merk KGaA. 2000. Chromocult Coliform Agar. Darmstadt, Germany.
- Mermin JH, Villar R, Carpenter J. 1999. A Massive Epidemic of Multidrug-resistant Typhoid Fever in Tajikistan Associated with Consumption of Municipal Water. *J Infect Disease.* 179:1416-1422.
- Moganedi KLM, Goyvaerts EMA, Venter SN, Sibara MM. 2007. Optimisation of The PCR-*invA* primers for the detection of *Salmonella* in drink and surface waters following a pre-cultivation step. *Water SA.* 33(2):195-202. ISSN 0378-4738.
- Monfort P, Le Gal D, Le Saux JC, Piclet G, Raguenees P, Boulben S, Plusquellec A. 1993. Improved Rapid Method for Isolation and Enumeration of *Salmonella* Bivalves Using Rambach Agar. *J Microbiol Methods.* 19 :67-79. France.
- Oladapo OO, Kwaga Jacob KP, Dzikwi Asabe A, Junaid K. 2013. Detection of *invA* virulence gene by Polymerase Chain Reaction (PCR) in *Salmonella* spp. isolated from captive wildlife. *Bio-genetics Journal.* 1(1):12-14.
- Oxoid. 1998. *Salmonella Shigella* Agar. Basingstoke, England.
- Podolak R, Enache E, Stone W, Black DG, Elliott PH. 2010. Sources and Risk Factors for Contamination, Survival, Persistence, and Heat Resistance of *Salmonella* in Low-Moisture Foods. *J Food Prot.* 73(10):1919-1936.
- Ray B. 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press. New York.
- Rosana EH. 2007. Deteksi Cemaran Coliform Dalam Minuman Es Teh yang Dijual Pedagang Kaki Lima di Kota Yogyakarta [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta. [Indonesia]

- Sachar D, Yaron S. 2006. Heat Tolerance of *Salmonella enterica* serovars Agona, Enteritidis, and Typhimurium in Peanut Butter. *J Food Prot.* 69:2687-2691.
- Sinskey TJ, Silverman GJ, Goldblith SA. 1967. Influence of Platen Temperatures and Relative Humidity During Storage on the Survival of Freeze-dried *Salmonella* Typhimurium. *Appl Microbiol.* 15(1):22-30.
- Susanna D, Indrawani YM, Zakianis. 2010. Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Makanan Pedagang Kaki Lima di Sepanjang Jalan Margonda Depok, Jawa Barat. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional.* 5(3):110-115.
- Thomason BM, Dodd DJ, William BC. 1977. Increase Recovery of Salmonellae From Environmental Samples Enriched with Buffered Peptone Water. *Appl Environ Microbiol.* 34(3):270-273.
- Turner KM, Restaino L, Frampton EW. 2000. Efficacy of Chromocult Coliform Agar for Coliform and *Escherichia coli* Detecton in Foods. *J Food Prot.* 63(4):539-541.
- Vollaard AM, Ali S, Van Asten HAGH, Ismid IS, Widjaja S, Visser LG, Surjadi C, Van Dissel JT. 2004. Risk Factors for Transmission of Food Borne Illness in Restaurants and Street Vendors in Jakarta, Indonesia. *Journal of American Medical Association.* 291:2607-2015
- WHO. 2003. Background Document: The Diagnosis, Treatment and Prevention of Typhoid Fever. Communicable Disease Surveillance and Response Vaccines and Biologicals. [whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO\\_V&B\\_03.07.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_V&B_03.07.pdf).
- Yeni FAS, Polat OG, Soyer Y, Alpas H. 2014. Rapid and Standardized Methods For Detection of Foodborne Pathogens and Mycotoxins on Fresh Produced. *Food Control* 40:359-367.