



Deteksi Gen *fliC Salmonella typhi* pada Jus Buah di Sekitar Wilayah Kedungmundu dengan Metode PCR

*Detection Gene *fliC Salmonella typhi* of Fruit Juice around Kedungmundu Area by PCR Method*

Rifkawati S Lalundo*, Aprilia Indra Kartika, Meutia Srikandi Fitria
Program Studi DIV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Semarang.
*Corresponding author: rifka.mec@gmail.com**

Riwayat Artikel: Dikirim; Diterima; Diterbitkan

Abstrak

Kasus demam tifoid Indonesia tersebar secara merata diseluruh provinsi baik di perkotaan maupun desa dengan insidensi 1,5 juta kasus per/tahun. Demam tifoid diakibatkan oleh *salmonella typhi* masuk ke tubuh manusia melalui makanan dan minuman yang telah terkontaminasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi cemaran *S. typhi* pada jus buah berdasarkan gen *fliC S. typhi*. Sampel penelitian adalah jus buah yang diblender langsung tanpa dikupas yaitu jus wortel, jus belimbing, jus *strawberry*, jus anggur dan jus tomat. Identifikasi dimulai dengan kultur media *buffer pepton water* selama ± 18 jam dengan suhu 37°C , isolasi DNA, elektroforesis agarosa 1%, amplifikasi dan mengukur produk hasil amplifikasi dengan agarose 2%. Berdasarkan hasil isolasi DNA pada jus buah didapatkan tiga dari lima jus buah positif tercemar *S. typhi* yaitu jus wortel, jus belimbing, dan jus tomat dengan hasil produk PCR sampel sebesar 1500 bp sedangkan jus anggur dan *strawberry* negatif tercemar *S. typhi*.

Kata kunci: Deteksi gen *fliC*, *Salmonella typhi*, jus buah, PCR

Abstract

Cases of typhoid fever in Indonesia are spread evenly throughout the province both in urban and rural areas with an incidence of 1.5 million cases per year. Typhoid fever is caused by salmonella typhi entering the human body through contamination food and drink. The research for identification contamination S. typhi in fruit juices based on the S. typhi fliC gene. Sample use for research is fruit juice that is blended directly without peeling, namely carrot juice, star fruit juice, strawberry juice, grape juice and tomato juice. Identification begins with pepton water buffer media culture for ± 18 hours at 37°C , DNA isolation, 1 % agarose electrophoresis, amplification and measuring of the product l amplification with agarose 2%. Based on the results of DNA isolation in fruit juice, three out of five positive fruit juices were contaminated with S. typhi, namely carrot juice, starfruit juice, and tomato juice with the results of a PCR sample of 1500 bp while negative grape juice and strawberry were contaminated with S. typhi.

Keywords: Detection gene *fliC*, *Salmonella typhi*, fruit juice, PCR

PENDAHULUAN

Kasus demam tifoid di Indonesia tersebar secara merata diseluruh provinsi baik di perkotaan maupun desa dengan insidensi 1,5 juta kasus per/tahun. Provinsi Jawa Tengah memiliki kasus demam tifoid pada tahun 2014 sebanyak 17.606 kasus, tahun 2015 sebanyak 13.397 kasus, dan pada tahun 2016 sebanyak 244.071 kasus (Andayani, 2018). Demam tifoid diakibatkan oleh *S. typhi* masuk ke tubuh manusia melalui makanan dan minuman yang telah terkontaminasi. *Salmonella typhi* bersifat patogen yang dapat menyebabkan demam tifoid dengan cara menyerang sistem pencernaan, dengan gejala demam tinggi, komplikasi pada hati hingga menyebabkan kematian dan sering terjadi di negara berkembang (Lestari, 2017).



Salah satu jenis olahan makanan yang memiliki daya kontaminasi tinggi yaitu jus buah. Definisi jus buah menurut SNI (2014) merupakan minuman yang berasal dari buah dengan tambahan air, gula, dan bahan tambahan makanan diproses dengan cepat, murah, dan mudah dikonsumsi. Sumber kontaminasi mikroorganisme yaitu alat-alat penunjang, bahan, kebersihan pedagang dan lingkungan serta kandungan air yang cukup tinggi merupakan media yang sering menjadi habitat hidup bakteri (BPOM RI, 2008).

Penelitian terkait kontaminasi bakteri pada minuman yang dilakukan oleh (Hermono, 2017) menemukan tiga dari tujuh belas sampel jus buah yang dijual di kecamatan Gunungpati Semarang positif terkontaminasi *Salmonella* sp. Penelitian yang dilakukan Amalia, (2013) mengenai optimasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk deteksi *Salmonella* sp. pada udang segar menemukan enam belas sampel udang segar positif terkontaminasi *Salmonella* sp. dan penelitian lain oleh Idar, (2018) mengenai deteksi *S. typhi* pada sayuran yang dikonsumsi mentah menemukan kontaminasi *S. typhi* pada tomat dan kol dari 9 jenis sayuran yang sering dikonsumsi mentah. Pendekatan secara molekuler dengan amplifikasi gen spesifik *Salmonella* sp. menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) terbukti telah sensitif, spesifik, dan cepat dalam mendeteksi keberadaan *Salmonella* sp. pada sampel makanan dan minuman (Hermono, 2017). Identifikasi ada tidaknya cemaran *S. typhi* pada jajanan jus buah disekitar wilayah Kedungmundu perlu dilakukan untuk melindungi konsumen. Identifikasi dapat dilakukan dengan penanda molekuler yang spesifik yaitu gen *fliC* mengkode flagella hanya ditemukan pada *S. typhi* dengan target gen sekitar 1500 bp (Nurhamidah *et al.*, 2018).

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Semarang dengan metode PCR. Sekuens primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah primer LPW 1857 yang spesifik pada gen *fliC S. typhi* Forward 5'-TTA ACG CAG TAA AGA GAG GAC GTT-3' dan Reverse 5' 5'-ATG GCA CAA GTC ATT AAT ACA AAC-3' dengan produk PCR berukuran 1500 bp. Proses identifikasi DNA diawali dengan kultur pada media BPW, isolasi DNA, uji kualitas DNA dengan elektroforesis agarosa 1%, amplifikasi DNA dengan cara hasil isolasi DNA sampel jus buah masing-masing ditambahkan primer LPW 1857 kemudian mengukur produk hasil amplifikasi DNA dengan elektroforesis agarose 2% untuk mengidentifikasi gen *fliC S. typhi* pada jus buah.

Isolasi DNA

Isolasi dilakukan dengan uji pendahuluan. Jus buah disaring lalu diinokulasikan pada media *buffer pepton water* dengan perbandingan 1: 9 kemudian diinkubasi selama \pm 18 jam dengan suhu 37°C. Hasil kultur dipindahkan ke dalam tabung konikal lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang, pellet ditambahkan 1500 μ l dan proteinase K 10 μ l. Gojog selama 15 menit, inkubasi pada suhu 55°C selama 30 menit, setiap 10 menit dikeluarkan dan digojog secara perlahan. Larutan disentrifus kembali dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit setelah itu supernatan ditambahkan phenol CIAA 700 μ l lalu disentrifus 8000 rpm selama 10 menit, lapisan atas ditambahkan etanol absolut dingin 1:1, dipindahkan benang-benang DNA ke dalam mikrotube, dicuci dengan etanol 70% kemudian disentrifus dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit dilakukan sebanyak 2x. Pellet dikeringanginkan, ditambahkan TE 100 μ l, dimasukkan ke dalam freezer selama semalam. Kemurnian DNA dicek menggunakan elektroforesis *agarose*.

Elektroforesis Gel Agarosa 1%

Pengecekan keberadaan DNA pada agarose 1%. Hasil isolasi DNA 6 μ l ditambahkan *loading dye* 4 μ l kemudian diresuspensi, dimasukkan pada setiap sumur. Proses running

elektroforesis dimulai dengan menghubungkan alat elektroforesis pada sumber listrik (*power supply*) lalu sisi yang berisi hasil isolasi diberi arus negatif. Besarnya arus elektroforesis yaitu 100 volt selama \pm 60 menit. Gel diangkat dan diletakkan pada alat UV transilluminator untuk melihat keberadaan pita DNA (Danuz, 2014).

Amplifikasi PCR

Reaksi PCR dibuat dalam total volume 25 μ l yang mengandung *nuclease free water* 7,5 μ l, master mix 2x 12,5 μ l, primer *F* dan *R* masing-masing 2 μ l dan 1 μ l DNA hasil ekstraksi. Amplifikasi dengan menggunakan primer spesifik LPW 1857 dilakukan dengan program sebagai berikut: predenaturasi 94°C selama 5 menit, denaturasi 94°C selama 30 detik, *annealing* 61°C selama 30 detik, *extension* 72°C selama 1 menit, dengan siklus PCR diulang sebanyak 35. *Post extension* 72°C selama 7 menit, kemudian suhu diturunkan sampai mencapai 4°C selama 10 menit. Sedangkan amplifikasi dengan menggunakan primer spesifik sapi digunakan program sebagai berikut: predenaturasi 95°C selama 4 menit, denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* 49°C selama 30 detik, *extension* 72°C selama 2 menit, dengan siklus PCR diulang sebanyak 35. *Post extension* 72°C selama 10 menit, kemudian suhu diturunkan sampai mencapai 4°C selama 10 menit. Hasil PCR disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan untuk analisis selanjutnya. Untuk amplifikasi dengan primer spesifik yang didesain, dilakukan dengan volume yang sama namun dengan program optimasi yang divariasi khususnya saat *annealing* yang merupakan faktor paling kritis. Reaksi optimasi dilakukan dengan melakukan berbagai variasi suhu khususnya saat *annealing*.

HASIL

Elektroforesis Hasil Amplifikasi Gen *fliC*



Gambar 1. Amplifikasi gen *fliC* menggunakan Primer LPW 1857 pada agarose 2% (M) Marker, (1) *S. typhi* pengenceran primer dengan TE, (2) *S. typhi*, pengenceran primer dengan NFW (3) jus tomat, (4) jus anggur, (5) jus belimbing, (6) jus *strawberry*, (7) jus wortel.

Sumber: Dokumentasi Pribadi

Tabel 1. Fragmen DNA isolat *S. typhi* dan jus buah hasil PCR yang diambil dengan elektroforesis agarose.

No	Kode sampel	Primer	Teramplifikasi	Jkuran pita	Mengandung <i>S. typhi</i>
1	<i>S. typhi</i> 1	LPW 1857	√	1500 bp	Ya
2	<i>S. typhi</i> 2	LPW 1857	√	1500 bp	Ya
3	Tomat	LPW 1857	√	1500 bp	Ya
4	Anggur	LPW 1857	-	-	Tidak
5	Belimbing	LPW 1857	√	1500 bp	Ya
6	Strawberry	LPW 1857	-	-	Tidak
7	Wortel	LPW 1857	√	1500 bp	Ya



Hasil PCR DNA jus buah tomat, anggur, belimbing, strawberry, wortel dan isolat *S. typhi* menggunakan primer LPW 1857 ditunjukkan pada Gambar 1 Hasil elektroforesis produk PCR ditandai adanya pita spesifik berukuran 1500 bp yang menunjukkan adanya Gen *fliC* pada isolat *S. typhi*, jus tomat, jus belimbing, dan jus wortel. Jus anggur dan jus strawberry tidak terbentuk pita DNA tunggal. Hasil pengamatan panjang fragmen DNA hasil PCR, DNA yang teramplifikasi dengan primer LPW 1857 adalah *S. typhi* 1, *S. typhi* 2, jus tomat, jus belimbing, dan jus wortel dengan produk PCR 1500 bp. Proses amplifikasi DNA diperoleh produk PCR yang diinginkan yaitu pita spesifik 1500 bp. Isolat sebagai kontrol positif yang dapat dijadikan dasar untuk menyimpulkan bahwa jus tomat, jus belimbing dan jus wortel mengandung *S. typhi* sedangkan jus anggur dan jus strawberry negatif atau tidak tercemar *S. typhi*.

DISKUSI

Hasil PCR jus *strawberry* dan anggur negatif tercemar *S. typhi* karena memiliki perbedaan lokasi tumbuhan yang tumbuh tidak kontak langsung dengan tanah sedangkan tanaman wortel dan tomat tumbuh merambat langsung ditanah selain itu dilihat dari proses penyimpanan, serta tingkat higienitas dari penjual jus buah. Jus belimbing positif tercemar *S. typhi* karena buah belimbing memiliki kandungan air yang cukup tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Idar (2018) menyatakan bahwa deteksi bakteri patogen *S. typhi* pada sayuran dan buah menggunakan metode PCR menemukan kontaminasi *S. typhi* pada buah tomat dan kol dari 9 jenis sayuran yang sering dikonsumsi mentah.

Genom yang *smear* pada hasil elektroforesis gel agarose 1% disebabkan karena adanya kontaminasi RNA, protein dan tidak utuhnya genom yang terisolasi. Genom yang mengalami fragmentasi menjadi banyak fragmen yang berbeda ukuran dan tertahan pada gel sesuai dengan ukurannya sehingga menghasilkan hasil yang *smear* (Mulyana, 2010).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi DNA pada 5 jenis jus buah dijual sekitar wilayah Kedungmundu didapatkan sampel jus anggur dan strawberry negatif mengandung *S. typhi* atau tidak terdapat cemaran *S. typhi* sedangkan sampel jus tomat, jus belimbing, dan jus wortel positif mengandung *S. typhi* ditandai dengan hasil produk PCR sampel sebesar 1500 bp.

REFERENSI

- Amalia, U., 2013. *Optimasi Polymerase Chain Reaction (PCR) Untuk Deteksi Salmonella spp. Pada Udang Segar*. Tesis. Program Studi Teknologi Ilmu Pangan. Institut Pertanian Bogor.
- Andayani., 2018. Kejadian Demam Tifoid di Wilayah Kerja Puskesmas Karangmalang. *Higeia Journal Of Public Health Research and Development*. 2(1), pp.57-68.
- BPOM Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. Pengujian mikrobiologi pangan. *Journal Info POM* 9 (1).
- BSN Badan Standarisasi Nasional. 2014. SNI. 3719- 2014: Minuman Sari Buah. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Danuz, S, Z., 2014. *Amplifikasi DNA Leptospira dengan Menggunakan Metode Insulated Isothermal Polymerase Chain Reaction (ii-PCR)*. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Hermono, BAS., 2017. *Identifikasi Salmonella sp. Pada Jajanan Jus Buah di Kecamatan Gunungpati Semarang dengan PCR*. FMIPA, Universitas Negeri Semarang. 2 : 68-73.
- Idar, Kusumawardani, dan Noviani., 2018. Deteksi Bakteri Patogen Salmonella typhi Pada Sayuran yang Dikonsumsi Mentah Menggunakan Metode Nested Polymerase Chain



- Reaction. *Department of Chemistry Faculty of Science and Technology Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*. 6(2), pp.151-159.
- Lestari, I., Hendrayana M. 2017. *Identifikasi dan Diagnosis Infeksi Bakteri Salmonella typhi*. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Udayana, Denpasar.
- Mulyana, Y., 2010. *Analisis Cemaran Daging Babi pada Kernet Sapi di Wilayah Ciputat dengan Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Skripsi. Fakultas Kedokteran & Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Nurhamidah, S., 2018. *Deteksi Salmonella enteric serovar typhimurium Dalam Produk Pangan Siap Saji Menggunakan Metode PCR, Melt Curve, dan analisis HRM*. *Majalah Farmasi Farma*

