



Identifikasi Gen *fliC Salmonella typhi* pada Susu Kedelai dengan Metode PCR

Identification of Salmonella typhi fliC Gen in Soy Milk with PCR Method

Ika Mustika^{1*}, Aprilia Indra Kartika¹, Ana Hidayati Mukaromah²

¹Program Studi DIV Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.

²Program Studi Magister Sains Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.

Corresponding author: cantika27.im@gmail.com

Riwayat Artikel: Dikirim; Diterima; Diterbitkan

Abstrak

Susu kedelai mengandung protein yang baik bagi kesehatan manusia apabila penanganannya memperhatikan aspek kebersihan. Namun susu kedelai merupakan salah satu media yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri dan dapat menjadi sarana bagi penyebaran bakteri yang membahayakan kesehatan manusia. Kontaminasi pada susu kedelai disebabkan beberapa faktor yaitu biji kedelai, air yang digunakan, kontaminasi makhluk maupun benda disekitarnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi adanya gen *fliC S. typhi* pada susu kedelai menggunakan metode PCR. Identifikasi diawali dengan kultur media *buffer pepton water* selama ± 18 jam suhu 37°C , ekstraksi DNA, uji kualitas DNA dengan elektroforesis agarose 1%, amplifikasi DNA dan analisa profil hasil amplifikasi DNA dengan elektroforesis agarose 2% sehingga akan terlihat fragmen DNA sesuai dengan ukuran panjang DNA yang diamplifikasi. Hasil penelitian menunjukkan dari 4 sampel susu kedelai (Sk1, Sk2, Sk3, dan Sk4) menunjukkan hasil positif adanya gen *fliC* dengan ukuran 1500 bp.

Kata kunci: Susu kedelai, *S. typhi*, Gen *fliC*, PCRAbstrak ditulis dalam bahasa Indonesia.

Abstrak

Susu kedelai mengandung protein yang baik bagi kesehatan manusia apabila penanganannya memperhatikan aspek kebersihan. Namun susu kedelai merupakan salah satu media yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri dan dapat menjadi sarana bagi penyebaran bakteri yang membahayakan kesehatan manusia. Kontaminasi pada susu kedelai disebabkan beberapa faktor yaitu biji kedelai, air yang digunakan, kontaminasi makhluk maupun benda disekitarnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi adanya gen *fliC S. typhi* pada susu kedelai menggunakan metode PCR. Identifikasi diawali dengan kultur media *buffer pepton water* selama ± 18 jam suhu 37°C , ekstraksi DNA, uji kualitas DNA dengan elektroforesis agarose 1%, amplifikasi DNA dan analisa profil hasil amplifikasi DNA dengan elektroforesis agarose 2% sehingga akan terlihat fragmen DNA sesuai dengan ukuran panjang DNA yang diamplifikasi. Hasil penelitian menunjukkan dari 4 sampel susu kedelai (Sk1, Sk2, Sk3, dan Sk4) menunjukkan hasil positif adanya gen *fliC* dengan ukuran 1500 bp.

Abstract

Soy milk contains proteins is good for healthy human when handling attention to aspects of cleanliness. But, soy milk is one of the best media for bacterial growth and can be a means for the spread of bacteria that endanger healthy human. Contamination in milk soy due to several factors, namely seed soy beans, water use, contamination beings and objects around it. The purpose of this study was to identify the presence of *Salmonella typhi fliC* gene in soy milk using the PCR method. Identification begins with culture media buffered peptone water for ± 18 hours a temperature of 37°C , extraction of DNA, test the quality of the DNA by electrophoresis agarose 1%, the amplification of DNA and analysis profiles the results of amplification of DNA by electrophoresis agarose 2% so as to be visible fragments of DNA corresponding to the size of the length



Amplified DNA. Results of the study show from 4 samples of milk soy (SK1, SK2, SK3, and SK4) shows the results of the positive presence of the gene fliC with the size of 1500 bp.

Keywords: Soy milk , *S. typhi* , *fliC* gene , PCR

PENDAHULUAN

Lingkungan yang sehat akan memberikan dampak positif, sebaliknya jika lingkungan dan gaya hidup tidak sehat, maka manusia akan mengalami dampak dari lingkungan misalnya infeksi penyakit *typhoid*. Penyakit *typhoid* merupakan problem yang serius bagi kesehatan masyarakat di negara-negara berkembang dan daerah dengan iklim tropis.

Berdasarkan Sistem Kewaspadaan Dini dan Respon (SKDR) Kemenkes bagian Pencegahan dan Pengendalian Penyakit (P2PL), kasus demam *typhoid* di Jawa Tengah selama tahun 2016 terdapat sebanyak 244.071 kasus. Sedangkan data yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Kota Semarang (2016) berdasarkan rekapitulasi laporan *typhoid* Puskesmas sekota Semarang mengalami peningkatan yang sangat tinggi yaitu sebanyak 7.796 kasus.

Salmonella typhi merupakan bakteri yang penyebab demam *typhoid* yang merupakan salah satu spesies bakteri family *Enterobacteriaceae*, bersifat Gram negatif, berbentuk batang, memiliki flagel, tidak berspora, motil, berkapsul dan bersifat fakultatif anaerob dengan karakteristik antigen O, H, dan Vi. Habitat *S. typhi* didalam saluran pencernaan manusia dan hewan (Portillo, 2000). Bakteri *S. typhi* dapat ditularkan melalui makanan dan minuman seperti susu kedelai (Lestari and Hendrayana, 2017). Susu kedelai merupakan minuman yang berasal dari kedelai yang rentan kontaminasi bakteri patogen karena proses pengolahan.

Menurut BPOM RI (2008) 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* (Harmono *et al.*, 2017).

Patogenitas pada makanan dan minuman dilakukan dengan menggunakan standar identifikasi isolat pada kultur media tertentu, observasi morfologi serta uji patogenitas dan biokimia. Prosedur standar tersebut memiliki beberapa kelemahan meliputi proses yang terlalu panjang dan memerlukan waktu yang lama, sehingga perlu dilakukan metode yang lebih sensitif, spesifik, dan lebih cepat berbasis molekuler seperti *Polymerase Chain Reaction*. PCR merupakan metode yang digunakan untuk mendeteksi *S. typhi* yang menargetkan gen spesifik.

Menurut penelitian Harmono *et al.* (2017), dari 17 sampel jajanan jus buah di kecamatan Gunungpati Semarang sebanyak 3 sampel menunjukkan hasil positif *S. typhi*, sedangkan pada penelitian Amalia (2013), sebanyak 100% sampel udang segar yang diambil dari 5 pasar basah di Jakarta mengandung *Salmonella spp*.

Salah satu gen penanda spesifik pada *S. typhi* adalah gen *fliC* yang mengkode ekspresi flagellin yang hanya ditemukan pada *S. typhi*. Penelitian cemaran *S. typhi* pada susu kedelai belum pernah dilaporkan, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang deteksi ada tidaknya cemaran gen *fliC S. typhi* pada susu kedelai yang dijual di Pasar Peterongan Semarang menggunakan metode analisis dengan teknik *Polymerase Chain Reaction*.



BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan 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* yaitu *forward* (5'- TTA, ACG, CAG, TAA, AGA, GAG, GAC, GTT-3') dan *reverse* (5'- ATG, GCA, CAA, GTC, ATT, AAT, ACA, AAC-3') produk ukuran yang dihasilkan sebesar 1500 bp. Proses identifikasi DNA diawali dengan penanaman sampel dalam media *buffer pepton water* (BPW), ekstraksi DNA, uji kualitas DNA dengan elektroforesis agarose 1%, amplifikasi DNA dan yang terakhir analisa profil hasil amplifikasi DNA dengan elektroforesis agarose 2%. Hasil ekstraksi sampel susu kedelai, masing-masing diberi primer LPW 1857 yang digunakan untuk mengidentifikasi gen *fliC S. typhi* pada susu kedelai.

1. Isolasi DNA

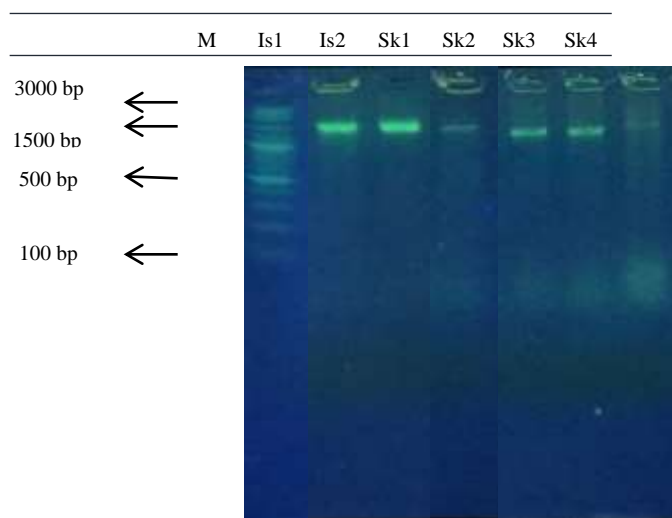
Proses identifikasi DNA diawali dengan penanaman sampel dalam media *buffer pepton water* (BPW) diinkubasi ± 18 jam pada suhu 37°C. Hasil inokulasi disentrifugasi 8000 rpm 10 menit. Supernatan dibuang, pellet ditambah 1500 μ l buffer lysis divortex selama beberapa detik. Pellet ditambahkan 20 μ l proteinase K, digojok kuat selama 15 menit. Diinkubasi pada suhu 55°C 30 menit. Disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm 15 menit. Supernatan dipindahkan pada tabung ependrof dan tambahkan phenol CIAA 700 μ l, digojok pelan-pelan 30 menit. Disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm 10 menit. Lapisan paling atas (*aquos*) dipindahkan ke tabung konikel, ditambahkan ethanol 96% dingin dengan perbandingan 1:1. Pellet, dicuci dengan ethanol 70%. Disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan dibiarkan sampai mengering. Pellet ditambahkan TE 100 μ l untuk melarutkan DNA. Hasil isolasi DNA dapat dilihat setelah dielektroforesis agarose 1%.

2. Identifikasi Gen *fliC*

Hasil isolasi diukur terlebih dahulu kemurniannya dengan elektroforesis gel agarose 1%. Setelah itu, reaksi PCR dibuat dalam total volume 25 μ l yang mengandung 7,5 μ l *nuclease free water*, 12,5 μ l *promega master mix*, 2 μ l primer *forward*, 2 μ l primer *reverse*, dan 1 μ l *template* DNA kedalam mikrotube khusus. Mikrotube dimasukkan kedalam alat *thermocycler*. Amplifikasi dengan menggunakan primer spesifik LPW 1857 dilakukan dengan program sebagai berikut : Inisiasi 95°C selama 4 menit dengan siklus sebanyak 35x, diikuti denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* dengan temperatur 48°C selama 30 detik dan *elongasi* 72°C selama 2 menit, *final elongasi* 72°C selama 10 menit dan diakhiri *cooling* 4°C selama 10 menit. Hasil PCR dapat dilihat setelah dielektroforesis menggunakan agarose 2%.

HASIL

Susu kedelai dengan kode sampel Sk1, Sk2, Sk3 dan Sk4 menunjukkan hasil PCR yang positif terhadap gen *fliC* dengan ukuran 1500 bp. Gambaran hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. PCR gen *fliC Salmonella typhi* (M = Marker DNA Vivantis 100 bp, Is1 = kontrol positif TE, Is2 = kontrol positif NFW, Sk1, Sk2, Sk3, dan Sk4 = Positif gen *fliC* dengan ukuran 1500 bp)

Tabel 1. Identifikasi Gen *fliC S. typhi* pada Susu Kedelai

No	Kode Sampel	Primer	Teramplifikasi	Ukuran Pita	Mengandung <i>S. typhi</i>
1	Isolat 1	LPW 1857	√	1500 bp	Ya
2	Isolat 2	LPW 1857	√	1500 bp	Ya
3	Susu kedelai 1	LPW 1857	√	1500 bp	Ya
4	Susu kedelai 2	LPW 1857	√	1500 bp	Ya
5	Susu kedelai 3	LPW 1857	√	1500 bp	Ya
6	Susu kedelai 4	LPW 1857	√	1500 bp	Ya

DISKUSI

Hasil PCR dan elektroforesis gel menunjukkan hasil positif pada setiap sampel yaitu, Sk1, Sk2, Sk3, dan Sk4 ditandai dengan adanya band DNA pada ukuran 1500 bp (Gambar 1). Hasil didukung pada penelitian yang dilakukan Harmono *et al.* (2017) terdapat 3 dari 17 sampel jus buah di Kecamatan Gunungpati positif *Salmonella* dengan ukuran 244 bp menggunakan primer *invA* 1 dan *invA* 2. Hasil serupa juga didapatkan pada penelitian Amalia (2013) yang menunjukkan positif gen *invA* sebesar 100% (dari 16 sampel yang diperoleh dari 5 pasar domestik basah yang ada di Jakarta) juga menghasilkan gen *invA* dengan ukuran 284 bp. Perbedaan ukuran *base pair* disebabkan karena adanya perbedaan primer gen yang akan diamplifikasi.

Intensitas pita DNA hasil amplifikasi oleh setiap sampel dipengaruhi oleh banyaknya koloni bakteri yang tumbuh pada saat inokulasi pada media *Buffer Pepton Water* (BPW), sehingga mempengaruhi hasil visualisasi elektroforesis gel agarose 2% dengan perbedaan tebal tipisnya band DNA yang terpancar (Gambar 1). Sampel dengan kode Sk1 dan Sk4 memiliki band yang tipis dipengaruhi karena sedikitnya benang-benang DNA yang terisolasi. Sebaliknya, sampel dengan kode Sk2 dan Sk3 memiliki band tebal karena banyaknya benang-benang DNA yang terisolasi. Penelitian ini didukung oleh penelitian dari Molita (2017) yaitu minuman susu kedelai positif terkontaminasi bakteri *Klasiella sp.* dan bakteri *Pseudomonas sp* pada susu kedelai tidak bermerek. Identifikasi cemaran



mikroorganisme pada makanan dan minuman dapat menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction*. Metode PCR sangat spesifik pada mikroorganisme dengan menggunakan primer tertentu (Yusuf, 2010).

KESIMPULAN

Identifikasi gen *fliC S. typhi* metode PCR pada susu kedelai yang dibeli di Pasar Peterongan Semarang menunjukkan hasil positif.

REFERENSI

- Amalia, U., 2013. *Optimasi Polymerase Chain Reaction (PCR) Untuk Deteksi Salmonella spp Pada Udang Segar*. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. Pengujian mikrobiologi pangan. *Journal Info POM* 9 (1).
- Dinas Kesehatan Kota Semarang. 2016. *Profil Kesehatan Kota Semarang 2015*. Semarang: Dinas Kesehatan Kota Semarang.
- Hermono, B. A. S., Bintari, S. H., Mustikaningtyas, D., 2017. *Identifikasi Salmonella sp Pada Jajanan Jus Buah di Kecamatan Gunungpati Semarang dengan PCR*. 40 (2) : 68-73.
- Lestari, I. D. A. M., Hendrayana, M. A., 2017. *Identifikasi Dan Diagnosis Infeksi Bakteri Salmonella typhi*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Undayana. Denpasar.
- Molita, A. D., 2017. *Identifikasi Bakteri Escherichia coli Pada Minuman Susu Kedelai Bermerek Dan Tidak Bermerek Di Kota Bandar Lampung*. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Portillo FG. 2000. *Molecular and Cellular Biology of Salmonella Pathogenesis in Microbial Foodborne Disease: Mechanisms of Pathogenesis and Toxin Synthesis*. 1st ed. Technomic Publishing Company Inc. Pennsylvania, USA. pp 3-7.
- Yusuf, Z, K., 2010. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. SaintekVol 5, No 6.S
- Yustina, I., Abadi, F. R., 2012. *Potensi Tepung Dari Ampas Industri pengolahan Kedelai Sebagai Bahan Pangan*.
- Zhao, Y., Wang, H., Zhang, P., Sun, C., Wang, X., Wang, X., Yang, R., Wang, C., Zhou, L., (2016) 'Rapid multiplex detection of 10 foodborne pathogens with an up-converting phosphor technology-based 10-channel lateral flow assay', *Scientific Reports*. Nature Publishing Group, 6 (January), pp. 1-8.