

RISET UNGGULAN UNIVERSITAS

**LAPORAN PENELITIAN**



**IDENTIFIKASI BIOKIMIA DAN MOLEKULER KEANEKARAGAMAN  
BAKTERI PATOGEN ASAL MAKANAN DAN MINUMAN JAJANAN ANAK  
SEKOLAH DI KOTA YOGYAKARTA**

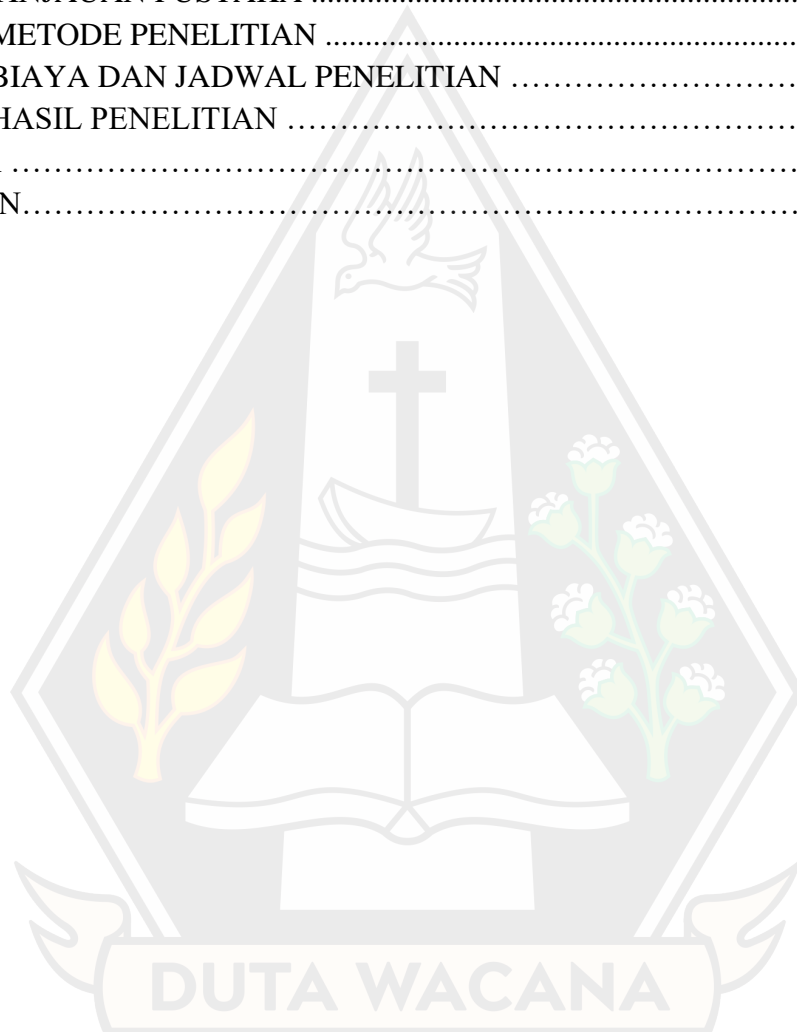
**TRI YAHYA BUDIARSO, S.Si., MP  
DRS. GURUH PRIHATMO, MS**

**DUTA WACANA**

**FAKULTAS BIOTEKNOLOGI  
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA  
YOGYAKARTA  
NOVEMBER 2019**

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
RINGKASAN .....	iv
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	3
BAB 3. METODE PENELITIAN .....	5
BAB 4. BIAYA DAN JADWAL PENELITIAN .....	9
BAB 5. HASIL PENELITIAN .....	10
PUSTAKA .....	24
LAMPIRAN.....	26



## Identifikasi Biokimia dan Molekuler Keanekaragaman Bakteri Patogen Asal Makanan dan Minuman Jajanan Anak Sekolah di Kota Yogyakarta

### RINGKASAN

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang telah dilaksanakan pada tahun 2018 yang mengambil tema besar untuk mendeteksi bakteri kontaminasi patogen pada berbagai makanan dan minuman jajanan yang banyak dijual dilingkungan sekolah dan beberapa tempat keramaian yang ada di kota Yogyakarta dan sekitarnya. Penelitian ini dilaksanakan karena adanya keprihatinan dari berbagai sumber yang menyebutkan selama beberapa dekade terakhir, telah terjadi peningkatan yang signifikan terkait dengan *foodborne-waterborne diseases*, yang dapat membahayakan kesehatan bagi anak-anak karena tidak hanya menyebabkan sakit tetapi juga dapat mengakibatkan kematian. Beberapa kasus penyakit yang telah terjadi seperti : diare mulai dari gejala ringan sampai diare yang disertai perdarahan, tifoid, batuk dan berbagai kasus penyakit lainnya sebagian besar terkait dengan konsumsi makanan yang telah terkontaminasi bakteri patogen. WHO juga melaporkan bahwa lebih dari 40% *foodborne diseases* dialami oleh anak-anak yang kurang mendapatkan pengawasan dari orang tua. Kondisi seperti ini sering terjadi di Indonesia ketika anak-anak menikmati makanan jajanan di sekolah. Pangan jajanan anak sekolah (PJAS) paling sering menjadi penyebab sakit pada anak-anak karena kontaminasi bakteri patogen seperti *Salmonella*, *E. coli* penyebab diare, *Staphylococcus* dan kelompok bakteri enterik patogen lainnya.

Studi keanekaragaman jenis bakteri patogen asal sampel PJAS sebagian telah dilaksanakan di lingkungan sekolah di wilayah kota Yogyakarta dan beberapa tempat umum yang banyak dikunjungi pelajar dan masyarakat Yogyakarta. Sampel makanan dan minuman jajanan yang dianalisis adalah yang setiap hari dijual oleh PKL dan kantin sekolah. Jenis makanan dan minuman yang analisis adalah makanan ringan/camilan, bakso tusuk, produk minuman teh, produk susu dan pangan lainnya yang biasa dijual dilingkungan sekolah. Sampel dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi UKDW untuk dilakukan isolasi dan identifikasi. Beberapa sampel yang telah berhasil teridentifikasi secara biokimia meskipun masih banyak sampel yang penting untuk dilanjutkan. Beberapa isolat yang telah teridentifikasi adalah : *Staphylococcus aureus*, *S. lentus*, *S.xylosus*, *S.warneri*, *S.sciuri*, *S.cohnii*, *Bacillus cereus* dan *B. subtilis*. Jenis bakteri gram negatif ditemukan jenis kontaminan: *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Klebsiella pneumonia* *Proteus*, *Shigella*, *Serratia liquefaciens*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Aeromonas hydrophila*. Identifikasi secara biokimia pada isolat sebagian sudah dikerjakan. Pada penelitian ini difokuskan pada deteksi bakteri kontaminan asal makanan bakso tusuk pada kelompok bakteri gram positif dan negatif yang dominan bersifat patogen prioritas pada kelompok *Staphylococcus* untuk deteksi gen penghasil enterotoksin dan dan *E. coli* yang bersifat enteroinvasive. Hasil konfirmasi molekuler menggunakan PCR untuk mendeteksi sifat enteroinvasive dari gen ipaH ditemukan bahwa 3 dari 4 isolat *E. coli* positif adalah enteroinvasive. Hasil dentifikasi molekuler pada isolat yang teridentifikasi sebagai *S. aureus* dengan % ID 70% menggunakan uji konfirmasi API Staph menunjukkan hasil positif memiliki gen nuc pada 270 bp dan gen laut pada 120 bp. Selain itu *Staphylococcus* spp lainnya, *S. lentus* hanya memiliki gen sea yang berpotensi menghasilkan enterotoksin A.

**Kata kunci:** Keanekaragaman, bakteri, patogen, PJAS

## BAB 1. PENDAHULUAN

Informasi tentang keanekaragaman bakteri patogen pada makanan dan minuman jajanan sangat diperlukan untuk memberikan gambaran tentang keamanan pangan secara mikrobiologis sehingga bahaya *Foodborne diseases* maupun *waterborne diseases* yang dialami anak-anak yang menikmati makanan jajanan di lingkungan sekolah dapat dihindari. Selain itu dapat memberi masukan kepada para penjual makanan dan minuman jajanan untuk mengubah proses pengolahan sehingga menghasilkan produk makanan maupun minuman jajanan yang sehat dan tidak menimbulkan penyakit. Pangan jajanan anak sekolah (PJAS) paling sering menjadi penyebab sakit pada anak-anak. Bakteri penyebabnya adalah *Salmonella*, *E. coli* penyebab diare, *Staphylococcus* dan kelompok bakteri enterik patogen lainnya. Kontaminasi bakteri patogen pada PJAS merupakan hal yang sulit dihindari karena kurangnya penanganan yang baik mulai dari penyiapan makanan sampai penyajian yang kurang higienis sehingga sering menimbulkan masalah kesehatan.

Kasus penyakit akibat kontaminasi makanan oleh mikroorganisme patogen (*foodborne diseases*) merupakan masalah kesehatan masyarakat yang menjadi perhatian serius di seluruh dunia. Sebagian besar negara telah melaporkan peningkatan yang signifikan selama beberapa dekade terakhir terkait dengan kejadian penyakit yang disebabkan mikroorganisme dalam makanan. WHO pada tahun 2015 merilis beban penyakit akibat konsumsi makanan diperkirakan 600 juta orang mengalami sakit, satu dari sepuluh orang sakit akibat *foodborne diseases*, dan hampir 30% kematian terjadi pada anak-anak dibawah umur 5 tahun. Sebagian besar kasus 70-95% disebabkan oleh bakteri patogen seperti *E. coli*, Norovirus, *Campylobacter*, non-typhoidal *Salmonella* (NTS) dan demam tifoid. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2015 melaporkan bahwa *foodborne diseases* dan diare karena cemaran minuman (*waterborne diseases*) telah membunuh dua juta per tahun termasuk anak-anak.

Sebagai bagian dari upaya mempermudah penanganan kesehatan masyarakat akibat *foodborne-waterborne diseases*, pendataan jenis-jenis bakteri patogen pada PJAS penting untuk serius ditangani. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan dengan pendanaan anggaran tahun 2018 telah berhasil mengkoleksi jenis-jenis bakteri kontaminan pada pangan jajanan dan minuman di lingkungan sekolah dan beberapa tempat umum yang banyak dikunjungi pelajar dan masyarakat Yogyakarta. Hasil koleksi isolat sebagian telah

teridentifikasi secara biokimia jenis-jenis bakteri kontaminan asal makanan jajanan anak sekolah di DIY dan kemudian akan dilanjutkan dengan pendanaan tahun 2019 untuk melakukan karakterisasi secara biokimia dan molekuler untuk melihat sifat patogenitas dari bakteri-bakteri yang telah terkoleksi. Beberapa jenis isolat yang telah teridentifikasi adalah : *Staphylococcus aureus*, *S. lentus*, *S.xylosus*, *S.warneri*, *S.sciuri*, *S.cohnii*, *Bacillus cereus* dan *B. subtilis*. Jenis bakteri gram negatif ditemukan jenis kontaminan: *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Klebsiella pneumoniae* *Proteus*, *Shigella*, *Serratia liquefaciens*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Aeromonas hydrophila*. Koleksi isolat yang telah diperoleh pada penelitian sebelumnya ini akan dilanjutkan dengan pendanaan anggaran tahun 2019.

**Tujuan khusus penelitian** lanjutan tahun 2019 ini untuk melakukan karakterisasi secara biokimia dan molekuler untuk mengungkap sifat patogen yang dimiliki bakteri tersebut khususnya pada makanan jajanan yang sangat digemari sebagian besar pelajar dan masyarakat umum di kota Yogyakarta yaitu bakso tusuk. Sifat patogen yang diungkap adalah kemampuan bakteri dari kelompok gram negative *E. coli* yang paling mendominasi kontaminan pada bakso tusuk. Sedangkan bakteri gram positif diungkap *Staphylococcus aureus* yang paling sering menyebabkan kasus keracunan makanan dengan mendeteksi keberadaan gen enterotoksin A.

Selain itu untuk mendapatkan koleksi isolat bakteri yang dapat digunakan untuk memetakan sifat resistensinya terhadap antibiotik. Koleksi kultur yang diperoleh, menjadi bank data jenis jenis bakteri patogen yang digunakan penelitian lebih lanjut sehingga dapat membantu penegakkan diagnosis, tindakan pencegahan maupun penanganan *foodborne-waterborne diseases* dapat tertangani secara akurat dan cepat. Jenis-jenis bakteri patogen yang terkoleksi dapat digunakan untuk mengembangkan data data molekuler dan sifat resistensi terhadap antibiotik yang akan bermanfaat bagi pengembangan inovasi sistem informasi kesehatan dan keamanan pangan. Penelitian ini sebagai langkah awal untuk mendukung mempercepat capaian renstra penelitian perguruan tinggi untuk inovasi teknik diagnostik penyakit sebagai bagian dari tema peduli kedokteran tropis dan penyakit infeksi (dari disiplin ilmu kedokteran) dan keamanan pangan (dari disiplin ilmu biologi/bioteknologi). Dengan menggabungkan kedua tema riset ini, maka UKDW memiliki unggulan dalam hal *database* bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit infeksi maupun intoksikasi yang terdapat pada PJAS.

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Sampel bakso tusuk yang diperoleh dari 10 lokasi yang berbeda di kota Yogyakarta dan sekitarnya mengandung kontaminan bakteri enterik yang melewati standar kualitas lebih dari 10<sup>9</sup> CFU/g. Jenis bakteri kontaminan yang ditemukan adalah *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, dan *Shigella*. Hasil konfirmasi molekuler menggunakan PCR untuk mendeteksi sifat enteroinvasif dari gen ipaH ditemukan bahwa 3 dari 4 isolat *E. coli* positif adalah enteroinvasif. Selain itu juga ditemukan bakteri *Staphylococcus* antara 1,7 x 10<sup>4</sup> hingga 2,0 x 10<sup>9</sup> CFU/gram. Hasil identifikasi biokimia menggunakan Staph API menunjukkan bahwa setiap sampel bakso tusuk telah terkontaminasi oleh bakteri *S. aureus* dengan % ID 70% dan 92%. Selain itu, jenis *Staphylococcus* spp yang lain juga ditemukan, yaitu *S. lentus* dengan % ID 99,6%, *S. xylosus* dengan % ID 99,8%, *S. cohnii* dengan % ID 96,6%, *S. sciuri* dengan % ID dari 86% dan *S. warneri* dengan % ID 79,4%. Hasil identifikasi molekuler pada isolat yang teridentifikasi sebagai *S. aureus* dengan % ID 70% menggunakan uji konfirmasi API Staph menunjukkan hasil positif memiliki gen nuc pada 270 bp dan gen laut pada 120 bp. Selain itu *Staphylococcus* spp lainnya, *S. lentus* hanya memiliki gen sea yang berpotensi menghasilkan enterotoksin A.

### B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian pada periode ini perlu ditindak lanjuti untuk memastikan sifat patogenitas bakteri lain yang belum diuji sehingga diperoleh profil bakteri patogen yang utuh dari bakso tusuk.



## DAFTAR PUSTAKA

- Brakstad, O.D.D.G. *et al.*, 1992. Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the nuc Gene. *Journal of Clinical Microbiology*, pp.1654–1660.
- Capita R, Allonso-Calleja C, Moreno B, and Garcia-Fernandez M C 2001. Assessment of Baird-Parker agar as screening test for determination of *Staphylococcus aureus* in poultry meat. *The Journal of Microbiology* **39** 321-325
- Cappuccino, J.G. and Welsh, C.T. 2017. Microbiology: A Laboratory Manual, Global Edition, Pearson, 163-227
- Cetin, O., Bingol, E.B., Akkaya, H. 2008. The Microbiological, Serological and Parasitological Quality of Cig Kofte (Raw Meatball) and Its Lettuce Marketed in Istanbul. *Istanbul. Polish J. of Environ. Stud.* Vol.17, no 5, 701-706
- Cramer, M.M. 2006. Food Plant Sanitation: Design, Maintenance, and Good Manufacturing Practices. Chapter 3. Boca Raton, FL: CRC Press
- Dos Santos, G.S., Solidonio, E.G., Costa, M.C.V.V., Melo, R.O.A., de Souza, I.F.A.C., Silva, G.R., and Sena, K.X.F.R. 2015. Study of Enterobacteriaceae group CESP (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Providencia*, *Morganella* and *Hafnia*): A Review. Brazil
- FDA. 2003. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. The Bad Bug Book. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Food and Drug Admin. College Park, Md
- Ferawati, H. Purwanto, Y. F. Kurnia, E. Purwati. 2017. Microbiological Quality and Safety of Meatball Sold in Payakumbuh City West Sumatra Indonesia. *World Academy of Science, Engineering and Technology. International Journal of Nutrition and Food Engineering.* Vol:11, No:4
- Gill, C.O., Penney, N. 1982. Bacterial Penetration of Muscle Tissue. *Journal of Food Science.* Vol 47, Issue 2 pages 690-691
- Huber H, Ziegler D, Pfluger V, Vogel G, Zweifel C, Stephan R 2011. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from livestock, chicken carcasses, bulk tank milk, minced meat, and contact persons. *BMC Veterinary Research* 76.
- Irwanto M I and Budiarto T Y 2015. Proceeding 1<sup>st</sup> International Seminar on “Natural Resources Biotechnology: from Local to Global” **1** 290-295
- Karachalios, G. N., Michelis, F. V., Kanakis, K. V., Karachaliou, I., Koutri, R., & Zacharof, A. K. (2006). *Splenic abscess due to Staphylococcus lentus: A rare entity.* *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 38(8), 708–710. doi:10.1080/00365540500447176
- Kementrian Kesehatan RI. 2011. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan. Situasi Diare di Indonesia. Available from: [www.depkes.go.id/downloads/Buletin%20Diare\\_Final \(1\).pdf](http://www.depkes.go.id/downloads/Buletin%20Diare_Final%20(1).pdf)
- King, Jerry, D., Evgeny, V., Andrew, P., Jianjun, L., and Duncan J. 2009. Post-assembly Modification of Bordetella bronchiseptica O Polysaccharide by a Novel Periplasmic Enzyme Encoded by wbmE. *The Journal Of Biological Chemistry* Vol. 284, NO. 3, pp. 1474–1483.
- Kloos W E, Ballard D N, Webster J A, Hubner R J, Tomasz A, Couto I, Sloan G, Dehart H P, Fiedler F, Schubert K, de Lencastre H, Sanches I S, Heath H E, Leblanc P A, Ljungh Å 1997. Molecular Characterization of *Staphylococcus sciuri* Strains Isolated from Humans. *Journal of Clinical Microbiology*, 0095-1137/00/\$04.0010 Mar. 2000, P. 1136–1143
- Parsot C. 2005. Shigella spp. and enteroinvasive *E. coli* pathogenicity factors, *FEMS Microbiol. Lett.* 252 8–11

- Patel, S.S., Chauhan, C.H., Patel, A.C., Shrimali, M.D., Patel, K.B., Prajapati, B.I., Kala, J.K., Patel, M.G., Rajgor, M., and Patel, M.A. 2017. Isolation and identification of *Klebsiella pneumoniae* from sheep-case report. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. India. ISSN: 2319-7706 Vol 6: 5 pp331-334.
- Pedroso, D.M.M., Laria, S.T., Gamba, R.C., Heidtmann, S., Lucia, V., Rall, M. 1999. Critical Control Points for Meatballs and Kibbe Preparations In a Hospital Kitchen. Journal of Revista de Microbiologia [online]. 1999 [cited 2011 January 15]; 30 (4)
- Pui, C.F., Wong, W.C., Chai, L.C., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Hidayah, N., Ubong, A., Farinazleen, M.G., Cheah, Y.K., and Son, R. 2011. *Salmonella*: A foodborne pathogen. Serdang. Malaysia. International Food Research Journal 18: 465-473
- Purnomo, H., and Rahardiyana, D. 2008. Indonesian Traditional Meatball. Department of Animal Food Science and Technology, Faculty of Animal Husbandry Brawijaya University. Malang International Food Research Journal 15 (2): 101-108
- Sethabutr, O., Venkatesan, M., Gerald, S., Murphy., Boonchuey, E., Charles, W., Hoge., and Peter, E. 1993. Detection of Shigellae and Enteroinvasive *Escherichia coli* by Amplification of the Invasion Plasmid Antigen H DNA Sequence in Patients with Dysentery. Department of Bacteriology, Immunology and Molecular Genetics. Thailand
- SMI (Standards for Microbiology Investigations). 2015. Identification of Enterobacteriaceae. Issued by the Standards Unit. Microbiology Services. Public Health England. London
- Song, T., Toma, C., Nakasone, N., Iwanaga, M. 2004. Sensitive and rapid detection of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* by a loop-mediated isothermal amplification method. FEMS Microbiology Letters 243 259-263. Okinawa 903-0215. Japan
- Sridhar, P. N. 2006. IMViC Reactions. Department of Microbiology. JJMMC. Davangere. <https://www.microrao.com/micronotes/imvic.pdf>
- Todd, E.C., Greig, J.D., Bartleson, C.A., Michaels, B.S. 2007. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 3. Factors contributing to outbreaks and description of outbreak categories. J Food Prot 70: 2199-2217
- Treyens, C., 2009. Bacteria And Private Wells. pp19–22. Available from: Google [www.nesc.wvu.edu]
- Turner, K.M., Restaino, L., and Frampton, E.W. 2000. Efficacy of Chromocult Coliform Agar for Coliform and *Escherichia coli* Detection in Foods. Journal of Food Protection Vol 63 No 4 Pages 539-541
- Vermassen, E., Fissore, R. A., Nadif Kasri, N., Vanderheyden, V., Callewaert, G., Missiaen, L., ... Smedt, H. D. (2004). Regulation of the phosphorylation of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor by protein kinase C. Biochemical and Biophysical Research Communications, 319(3), 888–893. doi:10.1016/j.bbrc.2004.05.071
- Wang, Q., Torzewska, A., Ruan, X., Wang, X., Rozalki, A., Shao, Z., Guo, X., Zhuo, H., Feng, L., and Wang, L. 2010. Molecular and Genetic Analyses of the Putative *Proteus* O antigen gene locus, Applied and Environmental Microbiology, 76(16):5471-5478. Doi: 10.1128/AEM.02946-09
- Weglarz, A. 2010. Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season. Department of Cattle Breeding, Agriculture University of Krakow, Poland. Czech J. Anim. Sci., 55 (12):548-556



Zimbro MJ, Power DA, Miller SM, Wilson GE, Johnson JA. 2009. Difco and BBL Manual of Microbiology Culture Media. Second Edition: Becton, Dickinson and Company. United States

