

**Deteksi dan Identifikasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp., dan  
*Staphylococcus* sp. pada Makanan Ringan di Kota  
Yogyakarta**

**Skripsi**



**Eunike Marganingrum Andriani Samodra  
31140033**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS BIOTEKNOLOGI  
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA  
YOGYAKARTA  
2018**

**Deteksi dan Identifikasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. pada Makanan Ringan di Kota Yogyakarta**

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



**Eunike Marganingrum Andriani Samodra  
31140033**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2018**

## LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Eunike Marganingrum Andriani Samodra

NIM : 31140033

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

**“Deteksi dan Identifikasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. pada Makanan Ringan 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 secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Yogyakarta, 28 Mei 2018



Eunike Marganingrum Andriani Samodra

## Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

DETEKSI DAN IDENTIFIKASI *Salmonella* sp., *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp. PADA MAKANAN RINGAN DI KOTA YOGYAKARTA

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

**EUNIKE MARGANINGRUM ANDRIANI SAMODRA**  
31140033


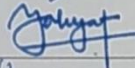
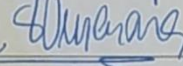
dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada tanggal 28 Mei 2018

### Nama Dosen

1. Prof. drh. Widya Asmara, SU., Ph.D  
(Dosen Penguji / Ketua Tim)
2. Tri Yahya Budiarso, S.Si. M.P.  
(Dosen Pembimbing I / Dosen Penguji)
3. Dr. Charis Amarantini, M.Si.  
(Dosen Pembimbing II / Dosen Penguji)

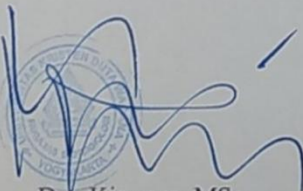
### Tanda Tangan

:   
:   
: 

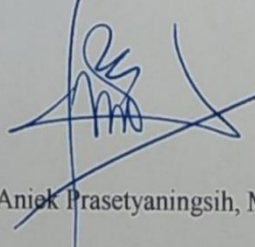
Yogyakarta, 28 Mei 2018

Disahkan Oleh:

Dekan

  
Drs. Kisworo, MSc.

Ketua Program Studi

  
Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat-Nya sehingga penelitian dan penulisan naskah skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat pada waktunya. Skripsi dengan judul “**Deteksi dan Identifikasi *Salmonella sp.*, *Bacillus sp.* dan *Staphylococcus sp.* pada Makanan Ringan di Kota Yogyakarta**” disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains (S.Si).

Penulis menyadari penyelesaian proses pembuatan laporan ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan semangat dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Tuhan Yesus Kristus** atas kasih karunia dan berkat-Nya hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
2. **Tri Yahya Budiarso, S.Si, M.P.** selaku Dosen Pembimbing I dan **Dr. Charis Amarantini, M.Si.** selaku Dosen Pembimbing II, yang sudah memberikan pengarahan, dukungan, dan kesabaran, serta bersedia meluangkan waktu sehingga penelitian skripsi ini dapat berjalan dan terselesaikan dengan baik.
3. Keluarga yaitu, **Bapak, Ibu, Moses, Joseph** yang selalu memberi dukungan semangat dan doa baik secara materi maupun rohani
4. Laboran: **Dewi Andini** dan **Hari Surahmanto** yang selalu membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian di Laboratorium
5. Teman-teman seperjuangan **Palimirma, Angelia, Kartika Putri, Yesica, Fina, Evelyn, Levita, Intan, Mutiara, Cuci, Erik, kakak Stefanus** dan teman-teman Bioteknologi Angkatan 2014 yang turut membantu, memberikan dukungan semangat, doa, dan hiburan.
6. Teman-teman pemuda gereja GPII El-Shaddai: **Nickhyta, Intan, Ella, Manon, Dani, Joshua, Eben, Rega, Omi, Dion, Abel, Sarah** yang selalu memberi dukungan semangat, doa dan bersedia meluangkan waktu untuk mendengar curahan hati.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Akhirnya skripsi ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkan

**Yogyakarta, 28 Mei 2018**

**Penulis**

# DAFTAR ISI

## Halaman

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN .....	viii
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT .....	x
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan.....	2
1.4. Manfaat.....	2
BAB II STUDI PUSTAKA .....	3
2.1. Makanan Ringan.....	3
2.2. Sumber Kontaminasi Makanan Ringan.....	3
BAB III METODE PENELITIAN .....	5
3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	5
3.2. Alat .....	5
3.3. Bahan.....	5
3.4. Cara Kerja.....	5
3.4.1. Koleksi Sampel.....	6
3.4.2. Tahap Resusitasi .....	6
3.4.3. Tahap Isolasi dan Seleksi .....	7
3.4.4. Skrining Bakteri.....	7
3.4.5. Tahap Konfirmasi Biokimiawi .....	7
3.4.6. Tahap Identifikasi Molekuler .....	8
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	9
4.1. Deteksi Bakteri Enteropatogenik.....	9
4.2. Seleksi dan Identifikasi Bakteri Enteropatogenik .....	13
4.3. Deteksi <i>Bacillus</i> sp. ....	16
4.4. Seleksi dan Identifikasi <i>Bacillus</i> sp.....	17
4.5. Deteksi <i>Staphylococcus</i> sp.....	18
4.6. Seleksi dan Identifikasi <i>Staphylococcus</i> sp. ....	19
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	23
DAFTAR PUSTAKA.....	24
LAMPIRAN .....	29

## DAFTAR TABEL

### Halaman

Tabel 1. Susunan primer pengkode gen toksin Hb1 dan Nhe pada <i>Bacillus</i> sp. untuk deteksi molekuler.....	8
Tabel 2. Total noncoliform, total <i>coliform</i> dan total enterik .....	9
Tabel 3. Hasil seleksi 11 sampel makanan ringan pada medium CCA.....	11
Tabel 4. Hasil uji TSIA dan Urea terduga <i>S. paratyphi A</i> dan <i>P. aeruginosa</i> .....	13
Table 5. Hasil uji iMViC terduga <i>S. paratyphi A</i> dan <i>P. aeruginosa</i> .....	15
Tabel 6. Hasil uji API 20E terduga <i>S. paratyphi A</i> dan <i>P. aeruginosa</i> .....	15
Tabel 7. Hasil deteksi <i>Bacillus</i> sp. di medium MYP.....	17
Tabel 8. Hasil uji biokimia pada isolat terduga <i>Bacillus cereus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> .....	17
Tabel 9. Hasil uji biokimawi diduga <i>S. xylosus</i> dan <i>S. aureus</i> .....	20
Tabel 10. Hasil uji fermentasi karbohidrat terduga <i>S. xylosus</i> dan <i>S.aureus</i> .....	20
Tabel 11. Hasil uji API STAPH pada isolat terduga <i>S. xylosus</i> dan <i>S. aureus</i> .....	21

## DAFTAR GAMBAR

### Halaman

Gambar 1. Tahapan penelitian.....	6
Gambar 2. Koloni warna Merah Ungu pada medium CCA .....	12
Gambar 3. Koloni putih pada medium SSA .....	13
Gambar 4. Hasil uji TSIA.....	14
Gambar 5. Hasil uji API 20E.....	16
Gambar 6. Koloni <i>B. cereus</i> pada medim MYP .....	16
Gambar 7. Hasil pengecetan gram dan endospora .....	18
Gambar 8. Hasil uji elektroforesis dari amplifikasi gen pengkode toksin HbI dan Nhe pada terduga <i>B. cereus</i> dan <i>B. subtilis</i> .....	18
Gambar 9. Koloni diduga <i>S. aureus</i> pada medium CCA dan BPA.....	19
Gambar 10. Hasil uji API STAPH .....	21
Gambar 11. Hasil amplifikasi PCR gen target <i>sea</i> .....	22

©UKYDWN



## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Bagan alir cara kerja isolasi DNA.....	30
Lampiran 2. Hasil jumlah koloni hasil enumerasi pada medium CCA.....	32
Lampiran 3. Hasil Uji API 20E .....	33
Lampiran 4. Hasil Uji API STAPH.....	34
Lampiran 5. Pemantauan skripsi Fakultas Bioteknologi.....	36
Lampiran 6. Daftar tatap muka mahasiswa dengan dosen pembimbing.....	37

©UKDW

# **Deteksi dan Identifikasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. pada Makanan Ringan di Kota Yogyakarta**

Eunike Marganingrum Andriani Samodra

**Program Studi Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana**

## **ABSTRAK**

Makanan ringan atau camilan dapat terkontaminasi oleh *Enterobacteriaceae*, *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. yang dapat berasal dari bahan baku, proses pengolahan dan penyajian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kontaminasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. maupun *Staphylococcus* sp pada makanan ringan yang dijual di Kota Yogyakarta. Enumerasi bakteri pada sampel makanan ringan menggunakan medium *Chromocult Coliform Agar* (CCA) untuk deteksi *Coliform* dan *E. coli*, medium *Mannitol-Egg Yolk Polymixin Agar* (MYP) untuk deteksi *Bacillus* sp. serta *Baird-Parker Agar* (BPA) untuk deteksi *Staphylococcus* sp. Isolat terduga kemudian dilakukan seleksi menggunakan uji biokimia seperti IMViC, TSIA, urea, motilitas, pewarnaan gram dan endospora serta fermentasi karbohidrat. Isolat terduga dikonfirmasi secara biokimia menggunakan API 20E dan API STAPH. Konfirmasi secara molekuler menggunakan gen pengkode toksin Nhe dan Hbl untuk *Bacillus* sp. dan *sea* untuk *Staphylococcus* sp. Hasil total bakteri enterik pada CCA yaitu  $4,6 \times 10^5$  hingga  $6,1 \times 10^8$  CFU/gr. Hasil konfirmasi secara biokimiawi melalui API 20 E teridentifikasi *Enterobacter cloacae* (98,9%) dan melalui API STAPH teridentifikasi sebagai *Staphylococcus lentus* (78,9%) dan *Staphylococcus xylosus* (64,7%). Hasil uji molekuler pada *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus* diketahui memiliki gen pengkode toksin Hbl dan Nhe.

**Kata Kunci:** *Salmonella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, Makanan ringan

# Detection and Identification of *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. and *Staphylococcus* sp. on Snack Food in Yogyakarta

Eunike Marganingrum Andriani Samodra

## ABSTRACT

Snacks can be contaminated by *Enterobacteriaceae*, *Bacillus* sp. and *Staphylococcus* sp. which can be derived from their raw materials, processing and even while serving the product. This study aims to determine the contamination of *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. and *Staphylococcus* sp. on snacks sold in Yogyakarta. Bacteria enumeration in snack samples were performed using various growth mediums such as Chromocult Coliform Agar (CCA) medium for detection of Coliform and *E. coli*, Mannitol-Egg Yolk Polymixin Agar (MYP) medium for detection of *Bacillus* sp., and Baird-Parker Agar (BPA) for detection of *Staphylococcus* sp. Presumed isolates were identified using biochemical tests such as IMViC, TSIA, urea, motility, gram and endospores staining and carbohydrate fermentation. Those isolates identity were confirmed biochemically using API 20E and API STAPH. Further molecular confirmation was performed through PCR to find encoding gene for toxins *Nhe* and *Hbl* for *Bacillus* sp. and *sea* for *Staphylococcus* sp. The result showed that the total plate count of Enteric bacteria on the CCA medium were  $4,6 \times 10^5$  to  $6,1 \times 10^8$  CFU/gr. The Results of biochemical confirmation using API 20 E identified the presence of *Enterobacter cloacae* (98.9%) and confirmation using API STAPH identified the presence of *Staphylococcus lentus* (78.9%) and *Staphylococcus xylosum* (64.7%). *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* isolated from the snacks were positively had the encoding genes for *Hbl* and *Nhe* toxins.

**Keywords:** *Salmonella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, Snack

# **Deteksi dan Identifikasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. pada Makanan Ringan di Kota Yogyakarta**

Eunike Marganingrum Andriani Samodra

**Program Studi Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana**

## **ABSTRAK**

Makanan ringan atau camilan dapat terkontaminasi oleh *Enterobacteriaceae*, *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. yang dapat berasal dari bahan baku, proses pengolahan dan penyajian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kontaminasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. maupun *Staphylococcus* sp pada makanan ringan yang dijual di Kota Yogyakarta. Enumerasi bakteri pada sampel makanan ringan menggunakan medium *Chromocult Coliform Agar* (CCA) untuk deteksi *Coliform* dan *E. coli*, medium *Mannitol-Egg Yolk Polymixin Agar* (MYP) untuk deteksi *Bacillus* sp. serta *Baird-Parker Agar* (BPA) untuk deteksi *Staphylococcus* sp. Isolat terduga kemudian dilakukan seleksi menggunakan uji biokimia seperti IMViC, TSIA, urea, motilitas, pewarnaan gram dan endospora serta fermentasi karbohidrat. Isolat terduga dikonfirmasi secara biokimia menggunakan API 20E dan API STAPH. Konfirmasi secara molekuler menggunakan gen pengkode toksin Nhe dan Hbl untuk *Bacillus* sp. dan *sea* untuk *Staphylococcus* sp. Hasil total bakteri enterik pada CCA yaitu  $4,6 \times 10^5$  hingga  $6,1 \times 10^8$  CFU/gr. Hasil konfirmasi secara biokimiawi melalui API 20 E teridentifikasi *Enterobacter cloacae* (98,9%) dan melalui API STAPH teridentifikasi sebagai *Staphylococcus lentus* (78,9%) dan *Staphylococcus xylosus* (64,7%). Hasil uji molekuler pada *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus* diketahui memiliki gen pengkode toksin Hbl dan Nhe.

**Kata Kunci:** *Salmonella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, Makanan ringan

# Detection and Identification of *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. and *Staphylococcus* sp. on Snack Food in Yogyakarta

Eunike Marganingrum Andriani Samodra

## ABSTRACT

Snacks can be contaminated by *Enterobacteriaceae*, *Bacillus* sp. and *Staphylococcus* sp. which can be derived from their raw materials, processing and even while serving the product. This study aims to determine the contamination of *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. and *Staphylococcus* sp. on snacks sold in Yogyakarta. Bacteria enumeration in snack samples were performed using various growth mediums such as Chromocult Coliform Agar (CCA) medium for detection of Coliform and *E. coli*, Mannitol-Egg Yolk Polymixin Agar (MYP) medium for detection of *Bacillus* sp., and Baird-Parker Agar (BPA) for detection of *Staphylococcus* sp. Presumed isolates were identified using biochemical tests such as IMViC, TSIA, urea, motility, gram and endospores staining and carbohydrate fermentation. Those isolates identity were confirmed biochemically using API 20E and API STAPH. Further molecular confirmation was performed through PCR to find encoding gene for toxins *Nhe* and *Hbl* for *Bacillus* sp. and *sea* for *Staphylococcus* sp. The result showed that the total plate count of Enteric bacteria on the CCA medium were  $4,6 \times 10^5$  to  $6,1 \times 10^8$  CFU/gr. The Results of biochemical confirmation using API 20 E identified the presence of *Enterobacter cloacae* (98.9%) and confirmation using API STAPH identified the presence of *Staphylococcus lentus* (78.9%) and *Staphylococcus xylosum* (64.7%). *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* isolated from the snacks were positively had the encoding genes for *Hbl* and *Nhe* toxins.

**Keywords:** *Salmonella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, Snack

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Makanan ringan yang biasa disebut sebagai *camilan* berasal dari kata “camil” yang berarti makanan yang dimakan diantara dua waktu makan, berdasarkan Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI) berhubungan dengan gaya hidup anak muda seringkali ingin melakukan segala sesuatu dengan mudah dan cepat serta serba instan terutama dalam urusan makanan salah satunya camilan. Alasan tersebut dapat dikaitkan dengan tingginya peminat makanan ringan atau cepat saji (Nielsen, 2006). Hal tersebut yang menjadi alasan bahwa konsumen saat ini tertarik dengan makanan apapun yang disukai tanpa memperhatikan keamanannya, kualitas, dan kebersihan makanan tersebut (Obioma dan Eberechukwu, 2018). Pentingnya menjaga keamanan pangan pada makanan ringan agar tidak terjadi keracunan makanan. Survei secara elektoral yang dilakukan oleh Welch's Global Ingredients Group pada tahun 2015 menyatakan bahwa, generasi muda saat ini sebanyak 92% lebih menyukai makan makanan ringan dari pada sarapan, makan siang maupun makan malam setidaknya satu minggu sekali. Survei dari YouGov tahun 2015 menunjukkan bahwa, negara Indonesia memiliki prosentase tinggi terhadap konsumsi makanan ringan sebanyak 24%. Rata-rata konsumen camilan adalah wanita sebanyak 57%.

Makanan ringan jenis ekstrudat dan keripik melalui proses penggorengan biasa pada pabrik dengan suhu yang tinggi bahkan mencapai 200° C (Guy, 2003). Namun, tidak selamanya suhu tinggi digunakan untuk menggoreng bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan makanan ringan, suhu lebih rendah dengan penggorengan vakum yang tidak lebih dari 90° C pun dapat digunakan (Dueik dan Bouchon, 2011a). Makanan ringan memiliki kadar lemak yang tinggi serta rendahnya aktivitas air ( $A_w$ ) tidak membuat makanan ringan bebas dari kontaminasi. Kontaminasi pada makanan ringan dapat berasal dari lingkungan proses pembuatan, cara pembuatan, air yang digunakan, udara, proses distribusi dan faktor kegiatan manusia (James *et al.*, 2005; Oranusi *et al.*, 2011). Terjadinya kontaminasi dapat mendatangkan penyakit yang masuk ke dalam tubuh melalui pencernaan dari makanan (WHO, 2007). Beberapa bakteri patogen yang dapat mengkontaminasi makanan ringan adalah *Staphylococcus aureus*, strain yang patogen *Eschericia coli*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, terutama species dari *Bacillus* dan *Salmonella* (CDC, 2010).

Kasus *Salmonellosis* sering terjadi di berbagai negara akibat konsumsi makanan ringan. Pada tahun 1993 di Jerman, terjadi kasus *Salmonellosis* karena keripik kentang pada anak-anak dibawah umur 1 tahun dan *Salmoenllosis* akibat keripik kentang juga terjadi di Amerika Serikat pada tahun 2007 dimana 55% yang terserang adalah wanita dan 80% menyerang anak-anak umur 1 hingga 3 tahun (Lehmacher *et al.*, 1995; Sotir *et al.*, 2009). Selain wabah, penarikan sejumlah merek keripik kentang yang beredar di Amerika Serikat juga terjadi. Salah satu merek makanan ringan jenis keripik yang terkenal yaitu *Lays* dengan varian rasa *Jalapeño Lay's Kettle Cooked Potato Chips* pada tahun 2017 yang dilaporkan oleh *Food and Drug Administrasion (FDA) U.S Department of Health and Human Services* terkait kontaminasi *Salmonella* sp. yang dapat menyebabkan *Salmonellosis* walaupun belum ada pernyataan bahwa ditemukan *Salmonella* sp., dan belum ada korban. Namun, berdasarkan ketetapan dari FDA maka dilakukan penarikan terhadap sampel-sampel tersebut. Berdasarkan data diatas, peneliti tertarik untuk melakukan deteksi dan identifikasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. pada produk makanan ringan di Yogyakarta.

## 1.2. Perumusan Masalah

Tingkat keamanan produk makanan ringan yang dijual dalam bentuk curah maupun kemasan belum banyak diteliti mengenai kemamanannya terhadap cemaran kontaminan terutama *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. yang dapat membahayakan kesehatan atau dapat menyebabkan infeksi saluran cerna pada konsumen walaupun sudah melalui proses penggorengan. Bahan baku dan proses dari awal hingga proses distribusi ke konsumen dapat terkontaminasi oleh bakteri. Berdasarkan permasalahan tersebut, hal ini menarik dilakukan penelitian untuk deteksi dan identifikasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. pada 2 jenis makanan ringan di Kota Yogyakarta sebagai kota pelajar yang memungkinkan tingkat konsumsi makanan ringan tinggi.

## 1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kontaminasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. maupun *Staphylococcus* sp pada makanan ringan yang dijual di Kota Yogyakarta.

## 1.4. Manfaat

Penelitian ini berguna untuk mengetahui jenis makanan ringan yang terkontaminasi melalui deteksi dan identifikasi *Salmonella* sp., *Bacillus* sp. serta *Staphylococcus* sp. yang dapat mengkontaminasi makanan ringan ekstrudat maupun keripik, sehingga penelitian ini dapat bermanfaat dan berguna untuk peningkatan pengolahan makanan ringan pada produsen dan penanganan bahan baku mentah serta menjadi sumber informasi akan bahaya makanan ringan jika tidak diperhatikan kebersihannya.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

Hasil penelitian pada 11 jenis makanan ringan tidak ditemukan bakteri patogen *Salmonella* sp. Namun ditemukan melalui API 20E ditemukan *Enterobacter cloacae* dengan index 98,9% pada sampel singkong balado curah dan keripik kentang keju asin kemasan dan *Enterobacter cloacae* dengan index 94,7% pada sampel tortilla pedas curah. Kontaminasi *Bacillus cereus* dan *Bacillus subtilis* terdapat pada sampel keripik kentang kemasan dan keripik kentang keju asin kemasan dengan keberadaan gen pengkode enterotoxin HbI dan Nhe. Selain itu, ditemukan *Staphylococcus lentus* melalui identifikasi menggunakan API STAPH dengan index 78,9% pada sampel corn puff kemasan dan *Staphylococcus xylosum* dengan index 64,7% pada sampel keripik singkong kemasan.

#### **5.2. Saran**

1. Para penjual atau pabrik yang memproduksi makanan ringan baik ekstrudat maupun keripik lebih memperhatikan setiap proses pembuatannya. Mulai dari pemilihan bahan baku mentah seperti; tepung, jagung, kentang, singkong dan bumbu-bumbu tambahan lain agar di sortir serta disimpan dengan tepat.
2. Para penjual atau pabrik yang memproduksi makanan ringan tersebut lebih memperhatikan proses pencucian bahan baku supaya cemaran dapat diminimalisir dan suhu penggorengan yang digunakan serta lama waktu penggorengan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson JE, Beelman RR, Doores S. 1996. Persistence of serological and biological activities of staphylococcal enterotoxin A in canned mushrooms. *J Food Prot* 59: 1292-1299.
- Anihouvi VB, Sakyi-Dawson E, Ayernor GS, Hounhouigan JD. 2007. Microbiological changes in naturally fermented cassava fish (*Pseudotolithus* sp.) for lanhouin production. *Int. J. Food Microbiol.* 116:287–291.
- Aziz N.H., Souzan R M., Shahin A.A. 2006. Effect of  $\gamma$ -irradiation on the occurrence of pathogenic microorganisms and nutritive value of four principal cereal grains. *Appl. Radiat. Isot.*, , 64, 1555–1562.
- Badan Standarisasi Nasional. 2000. SNI 01-2886-2000. Makanan Ringan Ekstrudat. Jakarta
- Barnes AI, Ortiz C, Paraje MG, Balanzino LE, Albesa I. 1997. Purification and characterization of a cytotoxin from *Enterobacter cloacae*. *Can. J. Microbiol.* 43(8), 729–733
- Beecher, D.J., Schoeni, J.L., Wong, A.C., 1995. Enterotoxic activity of hemolysin BL from from *Bacillus cereus* isolated after a foodborne outbreak. *FEMS Microbiol. Lett.* 141, 151–156
- Bell, C., and A. Kyriakides. 2009. *Salmonella*, p. 844–890. In C. De W. Blackburn and P. J. McClure (ed.), *Foodborne pathogens: hazards, risk analysis and control*, 2nd ed. Woodhead Publishing Ltd., Oxford, UK
- Bergdoll MS. 1983. Enterotoxins. In Easton CSF, Adlam C, editors. *Staphylococci and staphylococcal infections*. London: Academic Press. 559-598.
- Bergey. 2005. Characteristic differentiating the species of the Genus *Staphylococcus* as excerpted from Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2 pages 1016 – 1017
- Berghofer LK, Hocking AD, Miskelly D, Jansson E. 2003. Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *Int J Food Microbiol*; 85(1-2): 137-149
- Beuchat, L. R. 2009. Behavior of *Salmonella* in foods with low water activity. Presentation at IAFP Rapid response symposium “*Salmonella* in peanut butter products: understanding the risk and controlling the process,” Arlington, VA, 26 March 2009.
- Blaiotta G, et al. 2004. Diversity and dynamics of communities of coagulase-negative staphylococci in traditional fermented sausages. *J. Appl. Microbiol.* 97:271–284.
- Caro, A., P. Got., J. Lesne, S. Binard, and Bernard Baleux. 1999. Viability and virulence of experimentally stressed nonculturable *Salmonella* Typhimurium. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:3229–3232.
- Carrasco, E., Morales-Rueda, A., dan García-Gimeno, R. M. 2012. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: a review. *Food Res. Int.* 45, 545–556. Doi: 10.1016/j.foodres.2011.11.004
- CDC. 2010. Preliminary Food Net data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food. *Morb Mortal Wkly Rep.* 59(14): 418-422

- Chinedum A K., Ifeanyi O E., Eberes V., Stanley M C. 2014. The Bacteriology of Fried Ready-To-Eat Foods Sold In Enugu Metropolis, Nigeria. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)* e-ISSN: 2319-2402,p- ISSN: 2319-2399. Volume 8, Issue 9 Ver. I Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota-Twin Cities, St. Paul, MN, USA
- Dakic I, et al. 2005. Survey of genes encoding staphylococcal enterotoxins, toxic shock syndrome toxin 1, and exfoliative toxins in members of the *Staphylococcus sciuri* group. *J. Clin. Microbiol.* 43:4875– 4876.
- Doan, C.H., Davidson, P.M., 2000. Microbiology of potatoes and potato products: a review. *J. Food Prot.* 63, 668–683
- Dueik, V. dan Bouchon, P. 2011a. Development of healthy low-fat snacks: understanding the mechanisms of quality changes during atmospheric vacuum frying. *Food Reviews International* 27: 408-432
- Fangio M. F., Roura S. I., Fritz R. 2010. Isolation and identification of *Bacillus* spp. and related genera from different starchy foods. *Journal of Food Science*, 75: 218–221
- FDA. 2017. Frito-Lay Recalls Jalapeño Flavored Lay’s Kettle Cooked Potato Chips and Jalapeño Flavored Miss Vickie’s Kettle Cooked Potato Chips Due to Potential Presence of *Salmonella*. *State URL*:<https://www.fda.gov/Safety/Recalls/ucm554447.html>
- Guinebretière M. H., Thompson F. L., Sorokin A. et al., .2008. Ecological diversification in the *Bacillus cereus* group. *Environmental Microbiology*, vol. 10, no. 4, pp. 851–865
- Gunn B. A., Dunkelberg W. E. and Creitz J. R.1972. *American Journal of Clinical Pathology* 57. 236-238.
- Guy RCE (ed.). 2003. *Extrusion Cooking, Principles and Technologies*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing
- James M J, Martins J L, David A G. 2005. *Modern Food Microbiology* 782pp
- Jaquette, C. B., and Beuchat L. R.. 1998. Survival and growth of psychrotrophic *Bacillus cereus* in dry and reconstituted infant rice cereal. *J. Food Prot.* 61:1629–1635.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. 2005. *Modern food microbiology*. New York: Springer.

Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI). 2017. State URL: <https://kbbi.web.id/camil>

- Kanda M, Inoue H, Fukuizumi T, Tsujisawa T, Tominaga K, Fukuda J. 2001. Detection and rapid increase of salivary antibodies to *Staphylococcus lentus*, an indigenous bacterium in rabbit through a single tonsillar application of bacterial cells. *Oral Microbiol Immunol*. Oct;16(5):257-64.
- Lehmacher, A., Bockemuhl, J., & Aleksic, S. 1995. Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated paprika and paprika-powdered potato chips, (July 1994), 501–511.
- Lesne, J., S. Berthet, S. Binard, A. Rouxel, and F. Humbert. 2000. Changes in culturability and virulence of *Salmonella typhimurium* during long-term starvation under desiccating conditions. *Int. J. Food Microbiol*. 60:195–203.
- Letertre C, Perelle S, Dilasser F, Fach P .2003. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the *egc* cluster of *Staphylococcus aureus*. *J Appl Microbiol* 95: 38-43.
- Lund, T., DeBuyser, M.L., Granum, P.E., 2000. A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. *Mol. Microbiol*. 38, 254–261.
- Lund, T., Granum, P.E., 1996. Characterisation of a non-haemolytic enterotoxin complexes isolated from three different strains of *Bacillus cereus*. *Microbiology* 143:3329–3336.
- M. K Nesa, M. S. R. Khan dan M. Alam. 2011. Isolation, Identification and Characterization of *Salmonella* Serovars from Diarrhoeic Stool Samples of Human. *Bangl. J. Vet. Med.* (2011). 9(1): 85 – 93
- MacFaddin, J. F. 1985. *Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria*. Vol 1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Molina-Torres J, García-Chávez A, Ramírez-Chávez E. 1999. Antimicrobial properties of alkaloids present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicin. *J Ethnopharmacol* 64: 241-248.
- Morrine A Omolo, Zen-Zi Wong, Amanda K Mergen, Jennifer C Hastings, Nina C Le, Holly A Reiland, Kyle A Case and David J Baumler. 2014. Antimicrobial Properties of Chili Peppers
- Needham R., Williams J., Beales N., Voysey P., Magan N. 2005. Early detection and differentiation of spoilage of bakery products. *Sensors and Actuators B*, 106: 20–23
- Nesa M. K, Khan M. S. R. dan Alam M. 2011. Isolation, Identification and Characterization of *Salmonella* Serovars from Diarrhoeic Stool Samples of Human. Bangladesh, Dhaka: Department of Microbiology and Hygiene, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh, Dhaka
- Nielsen A C. 2006. Ready to eat meals: Global highlights. A global consumer survey report. Safety Practice among Food Vendors in Ilorin. *Journal of Medicinal Chemistry* 5:120-124.
- Obioma A. dan Eberechukwu I. I. 2018. Public Health Consequences of Pathogenic Bacterial Contamination of Ready to Eat Food/Snacks from Some Selected Retail Outlets on

Campus, Port Harcourt, Nigeria. Nkpolu, Port Harcourt, Department of Medical Laboratory Science, Faculty of Science, Rivers State University, Nigeria.

- Oranusi S, Omagbemi F, Eni A O. 2011. Microbiological safety evaluation of snacks sold in fast food shops in Ota, Ogun state, Nigeria. *International journal of Agricultural and Food science* 1(4): 75-79
- Peng, H., Ford, V., Frampton, E.W., Restaino, L., Shelef, L.A., Spitz, H., 2001. Isolation and enumeration of *Bacillus cereus* from foods on a novel chromogenic plating media. *Food Microbiology* 18, 231–238.
- R.M., Austin, J., Archer, J., Spayne, M., Daly, E.R., Griffin, P.M., 2009. Outbreak of *Salmonella* Wandsworth and Typhimurium infections in infants and toddlers traced to a commercial vegetable-coated snack food. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 28 (12), 1041e1046
- Richter, K. S., E. Dorneanu, K. M. Eskridge, and C. S. Rao. 1993. Microbiological quality of flours. *Cereal Foods World* 38:367– 369
- Robbins GB dan Lewis KH. 1939. *Fermentation of Sugar Acids by Bacteria*. Faculty Publications. Chemistry Department. University of Nebraska Lincoln.
- Rodgers S., .2003. Long shelf life cook-chill technologies: food safety risks and solutions. *Food Australia*, vol. 55, no. 3, pp. 80–83,
- Saelinger C A., Lewbart G A, Christian L S,; Lemons C L. 2006. Prevalence of *Salmonella* spp in cloacal, fecal, and gastrointestinal mucosal samples from wild North American turtles. *JAVMA*, Vol 229
- Sakalauskas S., Kačergius A., Janušauskaitė D., Čitavičius D. 2014. Bacteria with a broad-spectrum of antagonistic activity against pathogenic fungi of cereals. *Zemdirbyste-Agriculture*, 101 (2): 185–192 saliva, through a single tonsillar application of bacterial cells. *Oral Microbiol Immunol* 2001; 16: 257- 64.
- Sanders WE Jr, Sanders CC. 1997. *Enterobacter* spp.: pathogens poised to flourish at the turn of the century. *Clin. Microbiol. Rev.* 10, 220–241
- Scheldeman P., Herman L., Foster S., dan Heyndrickx M., .2006. *Bacillus sporothermodurans* and other highly heat-resistant spore formers in milk. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 101, no. 3, pp. 542–555,
- Sharp S. E., Searcy C. 2006. Comparison of Mannitol Salt Agar and Blood Agar Plates for identification and susceptibility testing of *Staphylococcus aureus* in specimens from cystic fibrosis patients. *Journal of Microbiology*.
- Sotir, M. J., Ewald, G., Kimura, A.C., Higa, J.I., Sheth, A., Troppy, S., Meyer, S., Hoekstra, Stepanovic S, Dakic I, Morrison D, Hauschild T, Jezek P, Petrás P, *et al.* 2009. Identification and characterization of clinical isolates of members of the *Staphylococcus sciuri* group. *J Clin Microbiol* 2005; 43:956–8

- Stepanovic S, et al. 2005. A comparative evaluation of phenotypic and molecular methods in the identification of members of the *Staphylococcus sciuri* group. *Syst. Appl. Microbiol.* 28:353–357
- Sulistiyowati A. 2001. Membuat keripik buah dan sayur. Jakarta: Puspaswara,.
- Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *J Food Control* 21:1199-1218.
- Trager, J. 1995. *The Food Chronology: A Food Lover's Compendium of Events and Anecdots From Prehistory to the Present.* Henry Holt.
- Turner K M, Restaino L, Frampton E W. 2000. Efficacy of Chromocult Coliform Agar for Coliform and *Escherichia coli* Detection in Foods. *Journal of Food Protection*, Vol. 63
- Turner, N.J., Whyte, R., Hudson, J.A., Kaltovei, S.L., 2006. Presence and growth of *Bacillus cereus* in dehydrated potato flakes and hot-held, ready-to-eat potato products purchased in New Zealand. *J. Food Prot.* 69, 1173–1177.
- Welch's Global Ingridients Group. 2015. Kebiasaan Konsumsi Cemilan Orang Asia. State URL: <https://id.yougov.com/id/news/2015/04/28/kebiasaan-konsumsi-cemilan-asia/>
- Werber, D., Dreesman, J., Feil, F., Van Treeck, U., Fell, G., Ethelberg, S., et al. 2005. International outbreak of *Salmonella* Oranienburg due to German chocolate. *BMC Infect. Dis.* 5:7. doi: 10.1186/1471-2334-5-7
- Wehrle, E., Moravek, M., Dietrich, R., B€urk, C., Didier, A., & M€artlbauer, E. 2009. Comparison of multiplex PCR, enzyme immunoassay and cell culture methods for the detection of enterotoxinogenic *Bacillus cereus*. *Journal of Microbiological Methods*, 78, 265–270.
- WHO. 2007. *Food Safety and Foodborne Illness. Fact Sheet 237 Review: World Health Organization, Geneva, Switzerland.*