

IDENTIFIKASI CEMARAN BAKTERI *SALMONELLA* PADA GULA CAIR MENGGUNAKAN *REAL TIME-POLYMERASE CHAIN REACTION* DAN MEDIUM SPESIFIK

Melysa Putri *, Fejri Subriadi, Syafrinal, Hafnimardiyanti, M. Ikhlas Armin, Annisa Putri

Program Studi Analisis Kimia, Politeknik ATI Padang, Jl. Bungo Pasang Tabing, Padang, 25171, Indonesia

*email: melysap27@gmail.com

Abstrak

Perkembangan industri makanan dan minuman, mengakibatkan permintaan terhadap ketersediaan gula cair juga semakin meningkat. Untuk menjamin higienitas produk gula cair, maka perlu dilakukan pengawasan mutu, salah satunya adalah analisis mikrobiologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri *Salmonella* sp. pada gula cair yang diproduksi oleh PT XYZ melalui metode analisis mikrobiologi dan genetik. Metode yang digunakan meliputi inokulasi bakteri pada medium spesifik Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar serta Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) untuk mendeteksi DNA bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perubahan warna pada media XLD yang mengindikasikan keberadaan *Salmonella* sp. Selain itu, hasil RT-PCR juga tidak menunjukkan amplifikasi pada sampel, kecuali pada kontrol positif. Hal ini membuktikan bahwa produk gula cair yang diuji bebas dari kontaminasi *Salmonella* sp., menunjukkan keberhasilan penerapan sanitasi dan penyimpanan yang baik dalam proses produksi.

Kata Kunci: Analisis Mikrobiologi, Gula Cair, RT-PCR, XLD Agar, *Salmonella* sp.

IDENTIFICATION OF *SALMONELLA* IN LIQUID SUGAR USING *REAL TIME-POLYMERASE CHAIN REACTION* AND SPECIFIC MEDIUM

Abstract

The development of the food and beverage industry has led to an increasing demand for the availability of liquid sugar. To ensure the hygiene of liquid sugar products, quality control is necessary, one of which is through microbiological analysis. This study aims to identify the presence of *Salmonella* sp. in liquid sugar produced by PT XYZ using microbiological and genetic analysis methods. The methods applied include bacterial inoculation on Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar as a specific medium and Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) to detect bacterial DNA. The results showed no color changes in the XLD medium that would indicate the presence of *Salmonella* sp. Additionally, the RT-PCR results did not show amplification in the samples, except for the positive control. This indicates that the tested liquid sugar products are free from *Salmonella* sp. contamination, demonstrating the effectiveness of good sanitation and storage practices during production.

Keywords: Liquid Sugar, Microbiological Analysis, RT-PCR, XLD Agar, *Salmonella* sp.

PENDAHULUAN

Gula pasir yang berbahan dasar tebu, dapat dibedakan menjadi tiga yaitu Gula Kristal Mentah (GKM) atau *raw sugar*, Gula Kristal Putih (GKP), dan Gula Kristal Rafinasi (GKR). *Raw sugar* merupakan bahan baku pembuatan gula rafinasi dan sebagian untuk gul kristal putih. Sementara, gula kristal putih adalah gula yang dihasilkan dari proses kristalisasi, yang umumnya digunakan untuk konsumsi rumah tangga. Sedangkan gula kristal rafinasi digunakan untuk kebutuhan industri seperti industri makanan, minuman, dan farmasi (Atqiya et al., 2024).

Dalam industri makanan, minuman, dan farmasi, gula kristal rafinasi digunakan dalam bentuk gula cair, karena dapat menyatu dengan rasa minuman dan makanan dengan baik. Gula cair diperoleh dengan cara melarutkan kembali gula pasir agar dapat menyatu dengan minuman dan makanan dengan baik. Produk gula cair ini memiliki beberapa keuntungan, diantaranya adalah lebih ekonomis, praktis dan higienis, lebih *fresh* dan tahan lama, menambah tekstur dan kekentalan, tanpa bahan kimia, dan sekaligus dapat berfungsi sebagai pemanis (Budiman & Asari, 2015).

Untuk menjamin higienitas produk gula cair, maka perlu dilakukan pengawasan mutu, salah satunya adalah analisis mikrobiologi. Hal ini disebabkan karena dalam proses pengolahannya terdapat air. Air merupakan media pertumbuhan yang baik bagi bakteri. Selain air, gula juga dapat menjadi makanan bagi bakteri. Selain air, gula juga dapat menjadi makanan bagi bakteri. Proses penyimpanan juga menjadi salah satu sumber kontaminasi bakteri. Bakteri yang umumnya terdapat pada produk makanan dan minuman ini adalah *Escherichia coli* dan *Salmonella sp* (Faiza & Kumalasari, 2024; Putri, 2016).

Salmonella sp merupakan bakteri penyebab infeksi utama pada manusia.

Umumnya bakteri ini masuk melalui jalan oral, biasanya dengan cara mengkontaminasi makanan dan minuman (Afdalia, 2017). Berdasarkan uraian di atas, penulis melakukan isolasi dan identifikasi cemaran bakteri *Salmonella sp* dengan menggunakan medium spesifik *Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD)* dan untuk analisis secara genetik dilakukan dengan menggunakan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)*. Metode RT-PCR merupakan metode analisis yang dapat menghasilkan hasil pengujian dengan sangat cepat. Hasil pengujian dapat dibaca setelah 1,5 – 2 jam. Sedangkan, pengujian dengan menumbuhkan bakteri pada medium spesifik membutuhkan waktu 1 x 24 jam (Garibyan & Avashia, 2013)

METODE PENELITIAN

Bahan dan alat

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan pekerjaan, yaitu sampling produk yang digunakan sebagai sampel, persiapan media, inokulasi bakteri pada media spesifik, ekstraksi DNA untuk selanjutnya dilakukan pengujian dengan menggunakan RT PCR. Produk gula cair yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil produksi dari PT XYZ. Adapun bahan-bahan yang digunakan antara lain *Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD)*, *Lactosa Broth (LB)*, *Rappaport Vassiliadis (RV) Broth*, *InstaGene Matrix*, *Q-See Salmonella*, dan *Nuclease Free Water (NFW)*.

Beberapa peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikropipet dan pipet tips, bunsen, striptube white with caps, centrifuge table-top, CFX 96 Deep well *Real Time PCR System*, *drybath heating block*, *laminar air flow*, pipet (P10, P20, P200, P1000), tips (10 µL, 100 µL, 1000 µL), tube 1,5 mL, vortexer, *dry heat block*, dan tabung reaksi.

Persiapan Media

Media *Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD)*, *Lactosa Broth (LB)*, *Rappaport Vassiliadis (RV) Broth* dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat-alat kaca disterilisasi di oven pada suhu 160-180°C selama 1-2 jam (Maulidina et al., 2023).

Inokulasi Bakteri

Inokulasi bakteri dari sampel dilakukan melalui tiga tahapan yaitu pra-pengayaan, pengayaan selektif, dan selektif pada media selektif. Untuk memperbanyak inokulum bakteri, pada pra-pengayaan dilakukan pengenceran bertingkat dengan menggunakan medium LB. Setelah inkubasi, dilanjutkan dengan proses pengayaan selektif dengan menggunakan media *RV broth*, dimana 1 mL inokulum dalam media LB dipipet dan dimasukkan ke dalam media *RV broth* dan diinkubasi selama 24 jam. Untuk melihat ada tidaknya *Salmonella sp.*, sebanyak 1 ose inokulum dari media *RV broth* dinokulasikan ke dalam media XLD agar dan diinkubasi selama 24 jam (Aulia et al., 2015; Maulidina et al., 2023).

Ekstraksi Deoxyribonucleic Acid (DNA)

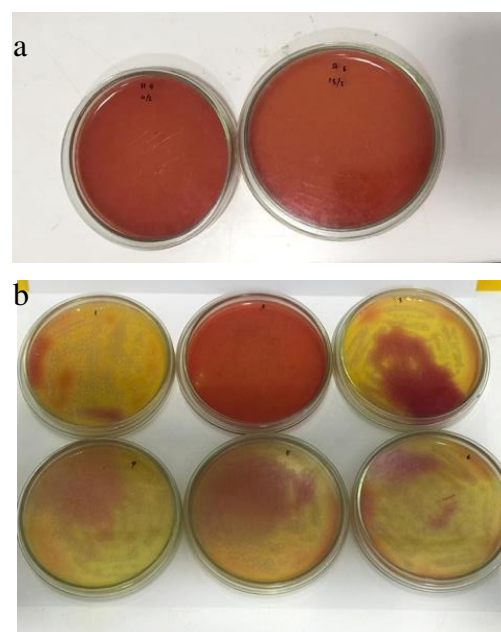
Sebanyak 1 mL sampel yang telah diperbanyak sebelumnya dimasukkan ke dalam *tube* 1,5 mL, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Setelah itu, sebanyak 500 µL NFW ditambahkan dan sentrifugasi dilanjutkan selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Supernatan yang terbentuk dibuang dan ditambahkan 200 µL reagen A pada pelet. Pelet diresuspensi dan divortex selama 10 detik. *Tube* sampel diletakkan pada *dry heat block* dengan temperatur 95 – 100°C selama 10 – 15 menit. Sampel divortex kembali selama 10 detik dan dilanjutkan dengan sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 14.000. Supernatan yang dihasilkan merupakan DNA yang akan dianalisis dengan menggunakan RT-PCR.

Identifikasi *Salmonella sp* dengan RT-PCR

Hal pertama yang dilakukan dalam analisis PCR adalah membuat *master mix* yang terdiri dari 40 µl *Amplification Mix* dan 5 µl *Fluorescent Probes*, Total reaksi 45 µl. Masing-masing tabung diisi dengan *master mix*, setelah itu ditambahkan 5 µl sampel, kontrol positif, dan kontrol negatif ke dalam masing-masing *well*. Setelah itu sentrifugasi dilakukan selama 30 detik dan RT-PCR selama 2 jam. Kondisi RT-PCR yang digunakan untuk denaturasi awal pada 95°C selama 3 menit, denaturasi 95°C selama 30 detik, dan terakhir *annealing* dilakukan pada temperatur 56°C selama 30 detik. Proses ini dilakukan sebanyak 40 siklus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

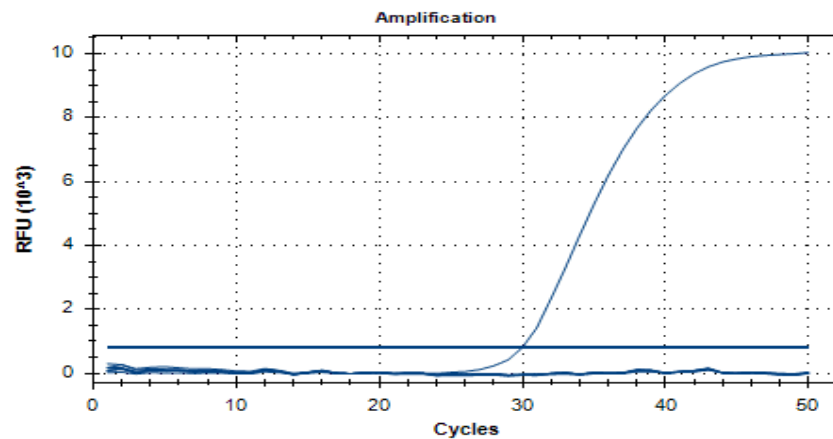
Media XLD mengandung *Xylose Lysine Deoxycholate* yang diyakini dapat berfungsi sebagai bahan pewarna yang memberikan visualisasi perubahan warna terbaik untuk mendeteksi *Salmonella sp.* dibandingkan dengan bahan lain (Warsiki et al., 2016).



Gambar 1. a. Media XLD Agar, b. Hasil Inokulasi Bakteri dari Produk Gula Cair

Hasil pengujian terhadap kehadiran *Salmonella sp* pada produk gula cair dengan menggunakan media XLD agar dapat dilihat pada gambar 1. Berdasarkan gambar 1a, media XLD agar yang belum

ditumbuhi mikroba berwarna merah-oranye. Pada gambar 1b warna media berubah menjadi kuning dan di dalam media tersebut terdapat koloni bakteri yang berwarna putih.



Gambar 2. Kurva Amplifikasi RT-PCR

Koloni bakteri yang berwarna putih tersebut bukanlah *Salmonella sp*. Jika produk makanan atau minuman terkontaminasi *Salmonella sp*, maka akan tumbuh koloni yang berwarna merah muda (pink) dengan atau tanpa inti hitam. Hasil pengujian menunjukkan bahwa sampel tidak terkontaminasi *Salmonella sp*, ini menunjukkan bahwa dalam proses produksi telah menerapkan sanitasi dan penyimpanan yang baik (Handayani et al., 2024; Sulistiani & Hafiludin, 2022).

Hasil pengujian dengan media spesifik ini juga didukung dengan hasil pengujian RT-PCR pada gambar 2. Pada gambar 2 terlihat bahwa tidak ada satupun sampel yang teramplifikasi. Grafik yang naik hanya satu dan itu pun adalah kontrol positif yang menunjukkan bahwa benar adanya bakteri *Salmonella sp* pada kontrol tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa produk gula cair yang dihasilkan oleh PT XYZ bebas dari kontaminasi *Salmonella sp*. Hal ini menunjukkan bahwa dalam

proses produksi telah menerapkan sanitasi dan penyimpanan yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Afdalia, D. (2017). *Identifikasi Bakteri Salmonella Sp. Pada Makanan (Kue Bingka) Yang Dijual Di Pasar Pagi Samarinda*. Politeknik Kesehatan Kalimantan Timur.
- Atqiya, M. W., Handayani, M., & Budiraharjo, K. (2024). Analisis Nilai Tambah Produk Gula Cair di PT Gula Energi Nusantara Semarang. *Mimbar Agribisnis : Jurnal Pemikiran Masyarakat Ilmiah Berwawasan Agribisnis*, 10(2), 2477–2485.
- Aulia, R., Handayani, T., & Yennie, Y. (2015). ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN ENUMERASI BAKTERI *Salmonella spp.* PADA HASIL PERIKANAN SERTA RESISTENSINYA TERHADAP ANTIBIOTIK. *Jurnal Biologi Indonesia*, 11(1).
- Budiman, D. A., & Asari, A. (2015, April 29). *Evaluasi Kinerja Mesin*

Pemeras Tebu Untuk Produksi Gula Cair.

- Faiza, A., & Kumalasari, I. D. (2024). Analisis Karakteristik Fisik dan Mikrobiologi pada Sirup. *Sainteks*, 21(1), 25. <https://doi.org/10.30595/sainteks.v21i1.21164>
- Garibyan, L., & Avashia, N. (2013). Polymerase chain reaction. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(3), 1–4. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.1>
- Handayani, K., Pertiwi, T., & Zahara, A. (2024). Uji Kontaminasi Cemarkan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada Produk Pasteurized Crab Meat.
- Maulidina, R., Marlina, E. T., & Utama, D. T. (2023). MUTU MIKROBIOLOGI PRODUK OLAHAN DAGING YANG DIJUAL SECARA DARING DARI UMKM DI KOTA BANDUNG. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 4(2). <https://doi.org/10.24198/jthp.v4i2.47313>
- Putri, R. W. A. (2016). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella Sp.* Pada Jajanan Batagor Di Sekolah Dasar Negeri Di Kelurahan Pisangan, Cirende, dan Cempaka Putih Kecamatan Ciputat Timur. UIN Syarif Hidayatullah.
- Sulistiani, A., & Hafiludin, H. (2022). Karakteristik Mikrobiologi (ALT, E. Coli dan Salmonella) pada Produk Hasil Perikanan di BPMHP Semarang. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*, 3(1), 37–43. <https://doi.org/10.21107/juvenil.v3i1.15342>
- Warsiki, E., Rahayuningsih, M., & Anggarani, R. R. (2016). MEDIA BERINDIKATOR WARNA SEBAGAI PENDETEKSI *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 26(3), 276–283.