

F/TPG  
2004  
078

**SKRIPSI**

**PREVALENSI *SALMONELLA* PADA SELADA SEGAR  
DI PASAR TRADISIONAL DAERAH BOGOR DAN EVALUASI  
PROSEDUR PENGUJIANNYA**

**Oleh :**

**DENNY SULISTYOWATI AGUSTIN  
F02400048**



**2004  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR**

**Denny Sulistyowati Agustin. F02400048.** Prevalensi *Salmonella* pada Selada Segar di Pasar Tradisional Daerah Bogor dan Evaluasi Prosedur Pengujinya. Di bawah bimbingan : Ratih Dewanti-Hariyadi dan C.C. Nurwitri. 2004.

---

## RINGKASAN

*Salmonella* merupakan salah satu bakteri patogen yang berpengaruh sangat besar pada kesehatan masyarakat. *Salmonella* di dalam makanan perlu mendapat perhatian meskipun umumnya terdapat dalam jumlah kecil, tetapi jumlah tersebut cukup untuk menimbulkan gejala sakit (Jenie dan Fardiaz, 1989). Beberapa penelitian di Indonesia melaporkan bahwa *Salmonella paratyphi A* ditemukan pada daun kemangi dan daun poh-pohan yang dijajakan di tingkat pedagang di pasar tradisional daerah Bogor (Isyanti, 2001). Lund *et al* (2000) juga menyebutkan bahwa pada selada ditemukan *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* dan *E. coli*.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan prevalensi *Salmonella* pada selada segar di pasar tradisional daerah Bogor dan mengevaluasi prosedur pengujinya, khususnya untuk mengetahui keefektifan media yang digunakan dalam prosedur isolasi dan identifikasi *Salmonella*.

Selada segar yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari beberapa pasar tradisional di daerah Bogor, yaitu Pasar Bogor, Pasar Anyar, Pasar Merdeka, Pasar Gunung Batu, dan Pasar Jambu Dua. Analisis mutu mikrobiologi yang dilakukan meliputi analisis mikroba secara kuantitatif untuk menghitung total mikroba dan analisis *Salmonella* (AOAC, 1995).

Sampling dilakukan pada 50 sampel selada segar, hasil analisis menunjukkan bahwa selada segar yang dianalisis mempunyai TPC antara  $5.66 \log_{10}$  CFU/g sampai  $7.12 \log_{10}$  CFU/g. Standar TPC (*Total Plate Count*) sayuran segar siap santap berdasarkan ICMSF (1986) yaitu  $10^5$ - $10^6$  CFU/g.

Analisis kualitatif *Salmonella* menunjukkan bahwa dari 50 sampel selada segar yang dianalisis, terdapat 5 sampel (10%) yang diduga *Salmonella*. Tetapi setelah dilakukan uji serologi lebih lanjut, ternyata hanya 2 sampel (4%) yang teridentifikasi sebagai *Salmonella* Weltevreden. Adanya *Salmonella* diperkirakan karena terjadinya kontaminasi feses manusia dan hewan saat pra panen sampai rentang waktu penjualan.

Hasil evaluasi prosedur pengujian juga menunjukkan bahwa 10 dari 35 koloni tipikal (28.57%) yang berasal dari media HEA (*Hektoen Enteric Agar*) diduga *Salmonella*. 22 dari 90 koloni tipikal dari media XLDA (*Xylose Lysine Desoxycholate Agar*) (24.4%) diduga *Salmonella*, sedangkan dari media BSA (*Bismuth Sulfite Agar*) diperoleh hasil bahwa 22 dari 98 koloni tipikal (22.45%) diduga *Salmonella*.

Dari koloni non tipikal yang diuji, ternyata hanya koloni non tipikal dari media HEA saja yang diduga *Salmonella* yaitu 14 dari 65 koloni non tipikal (21.54%). Dari media XLDA dan BSA tidak ada yang diduga *Salmonella* (0%) setelah koloni yang non tipikal diuji konfirmasi biokimia pada media TSI dan LIA. Dengan demikian data tersebut menunjukkan bahwa HEA paling efektif digunakan sebagai media isolasi *Salmonella*.

**PREVALENSI *SALMONELLA* PADA SELADA SEGAR  
DI PASAR TRADISIONAL DAERAH BOGOR DAN EVALUASI  
PROSEDUR PENGUJINYA**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
**SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**  
Pada Departemen Teknologi Pangan dan Gizi,  
Fakultas Teknologi Pertanian,  
Institut Pertanian Bogor

**Oleh :**  
**DENNY SULISTYOWATI AGUSTIN**  
**F02400048**

**2004**  
**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**  
**INSTITUT PERTANIAN BOGOR**  
**BOGOR**

INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

---

PREVALENSI *SALMONELLA* PADA SELADA SEGAR  
DI PASAR TRADISIONAL DAERAH BOGOR DAN EVALUASI  
PROSEDUR PENGUJINYA

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

**SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada Departemen Teknologi Pangan dan Gizi,

Fakultas Teknologi Pertanian,

Institut Pertanian Bogor

**Oleh :**

**DENNY SULISTYOWATI AGUSTIN**

**F02400048**

Dilahirkan pada tanggal 20 Agustus 1981

Di Bojonegoro

Tanggal lulus : 27 Agustus 2004

Menyetujui,

Bogor, September 2004

  
Dr. Ir. Ratih Dewanti - Hariyadi, M.Sc.

Dosen Pembimbing I

  
Dr. C. C. Nurwitri, DAA

Dosen Pembimbing II

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 20 Agustus 1981 di Bojonegoro, Jawa Timur, merupakan anak pertama dari tiga bersaudara pasangan Achmad dan Lilik Marliyati. Penulis memulai pendidikannya pada tahun 1986 di TK Pertiwi Dharma Wanita Bojonegoro dan melanjutkan pendidikan dasar di SDN Kadipaten II Bojonegoro pada tahun 1988-1994.

Pada tahun 1994-1997, penulis melanjutkan pendidikan di SMPN I Bojonegoro. Penulis menamatkan pendidikan di SMUN I Bojonegoro jurusan IPA. Pada tahun 2000, diterima di Institut Pertanian Bogor melalui jalur USMI (Undangan Seleksi Masuk IPB) sebagai mahasiswa di Program Studi Teknologi Pangan, Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Selama perkuliahan, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Teknologi Penyimpanan Pangan dan Pengawasan Mutu tahun ajaran 2004/2005. Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian, penulis melakukan penelitian yang berjudul “Prevalensi *Salmonella* pada Selada Segar di Pasar Tradisional Daerah Bogor dan Evaluasi Prosedur Pengujinya” di bawah bimbingan Dr. Ir. Ratih Dewanti-Hariyadi, M.Sc dan Ir. C. C. Nurwitri, DAA.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Ratih Dewanti-Hariyadi, M.Sc selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, menasehati tentang banyak hal, memberikan perhatian dan pengarahan kepada penulis.
2. Ir. C. C. Nurwitri, DAA selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan memberikan pengarahan kepada penulis.
3. Nur Wulandari, STP, MSi selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktunya untuk menguji dan memberikan saran kepada penulis.
4. Hibah Bersaing yang telah memberikan dana untuk penelitian ini.
5. Balai Pengujian Mutu Produk Peternakan Bogor yang telah membantu penulis melakukan uji serologi *Salmonella*, khususnya Ibu Neneng atas kesabarannya membimbing penulis.
6. Ayah dan bundaku tercinta yang selalu mencerahkan kasih sayang dan memberikan dukungan moril maupun materiil.
7. Adikku tercinta : Etha dan Finda yang selalu mendukung dan memberi warna hari-hariku. Sepupuku : Telsa, Beta, Nanak, Lufhfan, Putri, Tia, Abin, dan Nisa serta calon adik iparku : Nanung yang telah memberi dukungan dan semangat.
8. Nenek tersayang di Bojonegoro dan Surabaya yang selalu mendoakan serta keluarga besar penulis yang telah memberikan dukungan.
9. Mas Agus yang selalu memotivasi, mendukung dan mewarnai hari-hariku.
10. *My best friends* : Nophe dan Ria yang selalu memberikan semangat dan masukan, serta tempat mengadu dan berbagi cerita tentang semua hal. Sobat RDH'37 : Astrid, Gita dan Manto, terima kasih atas ilmu, pertolongan dan kebersamaan dalam suka duka selama penelitian di Lab-Mikro.

11. Teman-teman di Lab-Mikro lainnya : Witri, Tria, Linggam, Yani, Tantri, Cuit, Mbak Sul, Renny Pur, Meike, Rini, Acuy, dan Uton yang selalu berbagi keceriaan.
12. Teman-teman golongan B-4 : Juki, Sabeth, Abud dan Mba Sul yang pernah berjuang bersama-sama. Tetap semangat ya!
13. TPG 37-ers yang telah mewarnai hidupku di IPB.
14. Pak Koko dan Pak Sidik yang setia menemani lembur, Pak Rojak yang selalu membantu bon bahan-bahan, Pak Mul, Pak Wahid, Pak Gatot, Pak Sob, Pak Sol, Bu Rub, Mas Adi di PKMT, Mbak Novi, Teh Ida, Mas Dodi, Mbak Darsi, dan Pak Yahya.
15. Keluarga besar "Malea Putri Atas" : De Ingge, DePe, Winong, Ika, Echi, Rini-Bahlul, Ade, Lia, Noera, Dini, Pujay, Indah, Reyna, Mba Wilda, Uci dan Mba Uli. Terima kasih atas kebersamaan, kekeluargaan, dukungan, bantuan, perhatian dan kasih sayangnya.
16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah membantu penulis selama menempuh pendidikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangannya. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Bogor, Agustus 2004

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	ix
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
A. LATAR BELAKANG .....	1
B. TUJUAN .....	2
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. <i>SALMONELLA</i> .....	3
B. SALMONELLOSIS .....	4
C. PREVALENSI <i>SALMONELLA</i> PADA SAYURAN SEGAR .....	5
D. PROSEDUR PENGUJIAN <i>SALMONELLA</i>	
1. Pengujian <i>Salmonella</i> secara Biokimiawi .....	7
2. Serologi <i>Salmonella</i> .....	10
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN</b>	
A. BAHAN DAN ALAT	
a. Bahan Baku .....	12
b. Bahan Kimia .....	12
c. Media .....	12
d. Alat .....	12
B. METODE PENELITIAN	
1. Pengambilan Sampel .....	13
2. Persiapan Sampel dan Analisis Total Mikroba .....	13
3. Analisis <i>Salmonella</i> .....	14
3. Uji Konfirmasi dengan API 20E .....	19
4. Uji Serologi .....	19
C. EVALUASI PROSEDUR PENGUJIAN <i>SALMONELLA</i> .....	21

#### **IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

##### **A. ANALISIS MUTU MIKROBIOLOGI SAYURAN SEGAR**

1. Total Mikroba Selada Segar .....	22
2. Analisis <i>Salmonella</i> .....	25

##### **B. EVALUASI PROSEDUR PENGUJIAN *SALMONELLA* .....**

28

#### **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

##### **A. KESIMPULAN .....**

34

##### **B. SARAN .....**

35

#### **DAFTAR PUSTAKA .....**

36

#### **LAMPIRAN .....**

42

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kelebihan dan kekurangan media isolasi <i>Salmonella</i> .....	9
Tabel 2. Agen selektif dan sistem identifikasi pada media isolasi <i>Salmonella</i> .....	9
Tabel 3. Koloni tipikal <i>Salmonella</i> pada beberapa media .....	16
Tabel 4. Reaksi biokimia pada <i>Salmonella</i> .....	17
Tabel 5. Rata-rata jumlah total mikroba pada selada segar di beberapa pasar di daerah Bogor .....	23
Tabel 6. Hasil positif yang memerlukan konfirmasi uji serologi .....	26
Tabel 7. Hasil uji serologi isolat yang diduga .....	27

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Selada daun .....	7
Gambar 2. Diagram alir metode penelitian .....	13
Gambar 3. Diagram alir identifikasi <i>Salmonella</i> pada selada segar .....	18
Gambar 4. Koloni tipikal pada media HEA .....	29
Gambar 5. Koloni tipikal pada media XLDA .....	29
Gambar 6. Koloni tipikal pada media BSA .....	30
Gambar 7. Persentase koloni positif <i>Salmonella</i> setelah uji konfirmasi biokimia pada media TSI dan LIA terhadap jumlah koloni yang diisolasi dari media HEA, XLDA dan BSA .....	31
Gambar 8. Hasil identifikasi <i>Salmonella</i> pada API 20E .....	33

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi dan reaksi yang terjadi pada tiap strip API 20E .....	39
Lampiran 2. Contoh blanko pengujian pada API 20E .....	40
Lampiran 3. Hasil serotipe <i>Salmonella</i> berdasarkan skema Kauffmann-White .....	41
Lampiran 4. Penentuan fase II uji serologi <i>Salmonella</i> .....	42
Lampiran 5. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Bogor .....	43
Lampiran 6. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Anyar .....	44
Lampiran 7. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Gunung Batu .....	45
Lampiran 8. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Merdeka .....	46
Lampiran 9. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Jambu Dua .....	47
Lampiran 10. Hasil pengamatan <i>Salmonella</i> pada selada di Pasar Bogor	48
Lampiran 11. Hasil pengamatan <i>Salmonella</i> pada selada di Pasar Anyar	49
Lampiran 12. Hasil pengamatan <i>Salmonella</i> pada selada di Pasar Gunung Batu .....	50
Lampiran 13. Hasil pengamatan <i>Salmonella</i> pada selada di Pasar Merdeka .....	51
Lampiran 14. Hasil pengamatan <i>Salmonella</i> pada selada di Pasar Jambu Dua .....	52

## I. PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG

*Salmonella* merupakan salah satu bakteri patogen yang berperan penting sebagai indikator keamanan dan berpengaruh sangat besar pada kesehatan masyarakat. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri yang paling umum menyebabkan penyakit keracunan makanan di negara sedang berkembang dan negara berkembang (Del-Portillo, 2000).

*Salmonella* di dalam makanan perlu mendapat perhatian karena umumnya terdapat dalam jumlah kecil, tetapi jumlah tersebut cukup untuk menimbulkan gejala sakit (Jenie dan Fardiaz, 1989). Di negara-negara berkembang termasuk Indonesia, sayuran segar merupakan salah satu contoh bahan pangan yang kemungkinan besar bisa terkontaminasi oleh *Salmonella*. Sayuran sebagai produk pertanian mempunyai rantai perjalanan yang panjang dari tempat produksi hingga saat dikonsumsi. Selama dalam perjalanan tersebut terdapat pengaruh lingkungan yang memungkinkan terjadinya ketidakamanan pangan.

Beberapa penelitian di dalam negeri melaporkan bahwa *Salmonella* selalu diisolasi dari sayuran segar (kol, wortel dan kacang panjang) yang diperoleh di tingkat petani (Susilawati, 2002). Isyanti (2001) juga melaporkan bahwa *Salmonella paratyphi A* juga ditemukan pada daun kemangi dan daun poh-pohan yang dijajakan di tingkat pedagang di pasar tradisional daerah Bogor. *Salmonella* juga selalu diisolasi dari 7 kali pengambilan sampel semua jenis sayuran olahan (Ruslan, 2003).

Saat ini, dokumentasi kasus *outbreaks* oleh patogen di dalam bahan pangan di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia dapat dikatakan masih belum atau jarang dilakukan. Padahal, selama dekade terakhir ini, kasus *outbreaks* dihubungkan dengan konsumsi sayuran dan buah-buahan segar yang telah terkontaminasi, serta jus buah-buahan yang tidak dipasteurisasi

banyak dilaporkan di negara-negara lain (Bean *et al.*, 1997 di dalam Venkitanarayanan *et al.*, 2001).

Di Indonesia, kasus keracunan seperti ini mungkin terjadi namun tidak pernah dilaporkan karena dianggap sebagai kejadian yang biasa terjadi di masyarakat. Di Amerika dan Jepang, kasus-kasus keracunan akibat keracunan sayuran mentah menjadi marak akhir-akhir ini. Mikroba yang bertanggungjawab terhadap kasus *outbreaks* ini adalah *Salmonella*. Pada tahun 2000, *Public Health Laboratory Service* (PHLS) melaporkan terjadinya kasus keracunan akibat terinfeksi *Salmonella* Typhimurium DT 104 dan *Salmonella* Typhimurium DT 204b. Dalam keracunan tersebut 174 orang terinfeksi dan 1 orang meninggal karena konsumsi selada yang dijual secara grosir (Sagoo *et al.*, 2003).

Prosedur pengujian *Salmonella* secara konvensional yang dilakukan meliputi tahap pra pengkayaan (*pre enrichment*), pengkayaan selektif (*selective enrichment*), isolasi (*isolation*), dan konfirmasi (*confirmation*) (AOAC, 1995). Pada penelitian ini dilakukan konfirmasi biokimia dan konfirmasi serologi untuk menentukan serotipe *Salmonella*-nya. Pendekripsi *Salmonella* dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya oleh media yang digunakan. Beberapa laporan sebelumnya menunjukkan penggunaan prosedur yang tidak lengkap sehingga temuan *Salmonella* belum merupakan hasil terkonfirmasi. Dengan demikian, evaluasi tentang prosedur pengujinya juga perlu dikaji untuk mengetahui keefektifan media yang digunakan dalam menetapkan prevalensi *Salmonella*.

## B. TUJUAN

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan prevalensi *Salmonella* pada selada segar di pasar tradisional daerah Bogor dan mengevaluasi prosedur pengujinya, khususnya untuk mengetahui keefektifan media yang digunakan dalam prosedur isolasi dan identifikasi *Salmonella*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. *SALMONELLA*

*Salmonella* merupakan salah satu genus dari *Enterobacteriaceae*, berbentuk batang, Gram negatif, anaerobik fakultatif dan aerogenik. Biasanya bersifat motil dan mempunyai flagela peritrikus, kecuali *S. Gallinarum-Pullorum* yang selalu bersifat non motil (Supardi dan Sukamto, 1999).

*Salmonella* merupakan bakteri patogen yang berbahaya bagi manusia dan hewan lainnya. Habitat utama *Salmonella* adalah saluran usus binatang (burung, reptil, hama tanaman) dan manusia. *Salmonella* juga terdapat di bagian tubuh yang lain serta di udara terutama udara yang tercemar. Dalam studi di rumah pemotongan hewan babi, Kampelmacher menemukan *Salmonella* di limpa, hati, empedu, sendi dan feses (Jay, 2000).

Supardi dan Sukamto (1999) juga menyebutkan bahwa *Salmonella* umumnya dapat tumbuh pada media dengan  $a_w$  0.945-0.999. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu antara 5-47 °C, dengan suhu optimum 35-37 °C. Disamping itu, *Salmonella* dapat tumbuh pada pH 4.1-9.0 dengan pH optimum 6.5-7.5. Nilai pH minimum bervariasi tergantung pada serotipe, suhu inkubasi, komposisi media,  $a_w$  dan jumlah sel. Pada pH di bawah 4.1-9.0 *Salmonella* akan mati secara perlahan.

*Salmonella* hidup secara anaerobik fakultatif. Bakteri ini tidak dapat berkompetisi secara baik dengan mikroba-mikroba yang umum terdapat di dalam makanan. Oleh karena itu, pertumbuhannya sangat terhambat dengan adanya bakteri-bakteri lain, misalnya bakteri-bakteri pembusuk, bakteri genus *Escherichieae* dan bakteri asam laktat (Supardi dan Sukamto, 1999). Sel-sel *Salmonella* dapat bertahan hidup dalam keadaan dingin atau kekeringan untuk waktu yang lama dan mampu memperbanyak diri di dalam makanan tanpa mempengaruhi kualitas rasa makanan itu sendiri (Ray, 2001).

## B. SALMONELLOSIS

*Salmonella* mungkin terdapat pada makanan dalam jumlah tinggi, tetapi tidak selalu menimbulkan perubahan dalam hal warna, bau, maupun rasa dari makanan tersebut. Semakin tinggi jumlah *Salmonella* di dalam suatu makanan, semakin besar timbulnya gejala infeksi pada orang yang menelan makanan tersebut, dan semakin cepat waktu inkubasi sampai timbulnya gejala infeksi (Supardi dan Sukamto, 1999).

*Salmonella* dapat diisolasi dari feses, makanan maupun dari lingkungan. *Salmonella* pada makanan ditemukan pada kacang-kacangan, *salad dressing*, mayonnaise, susu dan makanan yang lain (Jay, 2000).

*Salmonella* yang tertelan dan masuk kedalam tubuh akan menimbulkan gejala yang disebut salmonellosis. Gejala salmonellosis yang sering terjadi adalah gastroenteritis. *Salmonella* penyebab gastroenteritis ditandai oleh gejala-gejala yang umumnya tampak 12-36 jam setelah makan bahan pangan yang tercemar. Gejala-gejala tersebut adalah diare, sakit kepala, muntah-muntah dan demam yang dapat berakhir selama 1-7 hari. Tingkat kematian kurang dari 1%, tetapi jumlah ini meningkat pada anak-anak, orang tua atau orang yang lemah (Buckle *et al.*, 1987).

Jumlah bakteri yang dapat menyebabkan infeksi bervariasi, tergantung pada serotipe dari *Salmonella* dan karakteristik kesehatan individu. Sekitar  $10^5$ - $10^{10}$  bakteri dapat menyebabkan infeksi ([www.dhss.state.mo.us/GLRequest/ID/Salmonella3-html-5k-](http://www.dhss.state.mo.us/GLRequest/ID/Salmonella3-html-5k-)).

Salmonellosis merupakan suatu infeksi pangan karena masuknya suatu spesies hidup organisme *Salmonella* (Marriott, 1999). Salmonellosis adalah suatu infeksi yang kadang-kadang fatal, terutama menyerang bayi atau hewan-hewan muda yang berumur kurang dari 1 tahun. Selain dipengaruhi oleh umur, timbulnya gejala infeksi oleh *Salmonella* juga bergantung kepada spesies dan strain mikroba tersebut serta jumlah mikroba yang tertelan (Supardi dan Sukamto, 1999). Gejala-gejala salmonellosis meliputi sakit perut, mual dan diare, kadang-kadang disertai demam ringan, muntah dan sakit kepala.

Salmonellosis biasanya terjadi 8-72 jam setelah memakan makanan yang terkontaminasi *Salmonella* ([www.safefood.net.au/ content.cfm?sid=468](http://www.safefood.net.au/content.cfm?sid=468)).

Salmonellosis terjadi di negara-negara di seluruh dunia. Laporan tentang salmonellosis menunjukkan bahwa lebih dari 5000 kasus terjadi di Australia setiap tahun. Pada tahun 1996, 54 kasus salmonellosis yang disebabkan oleh serovar *Salmonella* Mbandaka terjadi di Australia yang dihubungkan oleh konsumsi mentega kacang. Pada bulan Maret 1999, 74 kasus salmonellosis karena *Salmonella* Typhimurium 135A dilaporkan terjadi di Australia selatan karena konsumsi jus buah segar ([www.safefood.net.au/ content.cfm?sid=468](http://www.safefood.net.au/content.cfm?sid=468)).

Di Amerika Serikat, kasus salmonellosis terjadi sebanyak 200.000 hingga 1 juta kasus setiap tahunnya (Marriott, 1999). Pada tahun 1999, di 15 negara bagian Amerika Serikat dan 2 provinsi di Kanada, terdapat 300 kasus salmonellosis akibat konsumsi jus jeruk yang tidak dipasteurisasi dan terkontaminasi *Salmonella* Muenchen (Jay, 2000). Di Inggris dan Wales, antara tahun 1992 dan 2000, 85 dari 1518 (5.6%) kasus keracunan makanan, menyebabkan infeksi pencernaan karena mengkonsumsi salad, buah dan sayuran (O' Brien *et al.*, 2001 di dalam Sagoo *et al.*, 2003).

Lin *et al* (2000) menyebutkan bahwa *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp dan *Shigella sonnei* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan keracunan makanan akibat mengkonsumsi buah dan sayuran segar. Selain itu, Lukasik *et al* (2001) menambahkan bahwa keracunan akibat *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli* O157:H7 berkaitan dengan konsumsi sayuran dan buah segar seperti tauge, tomat, semangka dan salad.

### C. PREVALENSI *SALMONELLA* PADA SAYURAN SEGAR

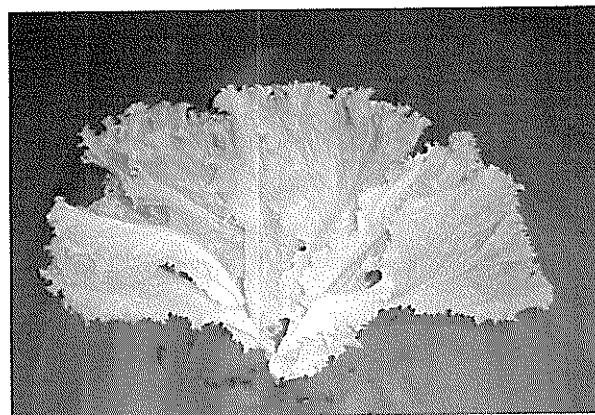
Sayuran dapat berasal dari berbagai bagian atau organ tanaman yang selalu kontak dengan lingkungan selama pertumbuhannya. Oleh karena itu sayuran dapat terkontaminasi oleh mikroorganisme yang umumnya menyebabkan kerusakan pada sayuran. Mikroorganisme pada sayuran

umumnya adalah bakteri Gram negatif (Lund *et al*, 2000). Bakteri tersebut antara lain *Pseudomonas*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Flavobacterium* spp., *Xanthomonas* spp., *Chromobacterium* spp., dan *Alcaligenes* spp (Nguyen-the dan Carlin, 2000). Apabila sayuran segar tercemar oleh mikroba dalam jumlah yang cukup tinggi, maka kemungkinan besar sayuran tersebut tidak aman untuk dikonsumsi.

Beberapa penelitian di Indonesia melaporkan bahwa *Salmonella paratyphi A* ditemukan pada daun kemangi dan daun poh-pohan yang dijajakan di tingkat pedagang di pasar tradisional daerah Bogor (Isyanti, 2001). Susilawati (2002) juga melaporkan bahwa *Salmonella* selalu diisolasi dari sayuran segar (kol, wortel dan kacang panjang) yang diperoleh di tingkat petani, sedangkan Ruslan (2003) selalu mengisolasi *Salmonella* dari 7 kali pengambilan sampel semua jenis sayuran olahan.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sagoo *et al.* (2003) di Inggris pada sayur-sayuran yang biasa digunakan sebagai penyusun salad, 3.826 dari 3.852 sampel (99.3%) memenuhi persyaratan kualitas mikrobiologi menurut petunjuk mikrobiologi dari *Public Health Laboratory Service* sedangkan sebanyak 20 sampel (0.5%) tidak memenuhi kualifikasi yang diinginkan. Penyebab tidak terpenuhinya kualifikasi mutu yang diinginkan tersebut adalah karena keberadaan *Escherichia coli* dan *Listeria* spp. (bukan *Listeria monocytogenes*) melebihi  $10^2$  CFU/g. Tetapi, enam sampel (0.2%) juga tidak memenuhi kualifikasi mutu secara mikrobiologi karena keberadaan *Salmonella* (*Salmonella* Newport PT33 [satu sampel], *Salmonella* Umbilo [tiga sampel], dan *Salmonella* Durban [satu sampel]) atau karena keberadaan *L. monocytogenes* yang mencapai 660 CFU/g, yang mengindikasikan resiko terhadap kesehatan.

Selada (*Lactuca sativa*, L.) merupakan contoh sayuran yang biasa digunakan sebagai penyusun salad dan banyak dikonsumsi mentah sebagai lalap. Selada yang umum dibudidayakan saat ini dikelompokkan menjadi empat macam tipe, yaitu selada krop (selada telur), selada rapuh, selada daun, dan selada batang (Haryanto, *et al*, 2003). Selada daun yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Selada daun

Hasil penelitian Lund *et al* (2000) menyebutkan bahwa pada selada ditemukan *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* dan *E. coli*. Lund *et al* (2000) menambahkan bahwa bakteri aerobik mesofilik (bakteri yang tumbuh pada suhu antara 25-37 °C) yang terdapat pada selada segar berjumlah 4-8 log CFU/g. Mitchell (1993) juga menyebutkan bahwa selada beresiko tinggi bila dimakan mentah karena tumbuhnya dekat dengan tanah.

Prevalensi *Salmonella* dalam sayuran yang akan dimakan mentah menurut rekomendasi ICMSF (*International Comission on Microbiological Specification for Foods*) (1986) adalah harus tidak ada dalam 25 gram sampel, sedangkan menurut peraturan Public Health Laboratory Service (2000) di dalam Sagoo *et al* (2003) tentang penilaian kualitas mikrobiologi sayuran segar juga menyebutkan bahwa batas aman *Salmonella* adalah tidak terdeteksi dalam 25 gram sampel sayuran segar. Di Indonesia, Ditjen POM (1989) mensyaratkan bahwa sayuran yang dimakan mentah juga tidak boleh mengandung *Salmonella*.

## A. PROSEDUR PENGUJIAN *Salmonella*

### 1. Pengujian *Salmonella* secara Biokimiawi

*Salmonella* merupakan salah satu bakteri enteropatogenik, yaitu kelompok bakteri yang menyebabkan infeksi gastrointestinal. Bakteri enteropatogenik umumnya terdapat dalam jumlah kecil di dalam makanan, tetapi jumlah tersebut cukup untuk menimbulkan gejala sakit. Uji

*Salmonella* meliputi beberapa tahap untuk memperbanyak jumlahnya sehingga memudahkan untuk mendeteksi dan mengisolasi (Jenie dan Fardiaz, 1989).

Prosedur pengujian *Salmonella* secara konvensional meliputi tahap pra pengkayaan, pengkayaan selektif, isolasi, dan konfirmasi. Jenis media yang digunakan merupakan salah satu faktor yang sangat berpengaruh dalam mendeteksi *Salmonella*.

Tahap pra pengkayaan umumnya memerlukan media nutrisi non selektif, misalnya lactose broth atau tripton soya broth. Lactose broth kurang cocok jika digunakan untuk analisis sampel yang mengandung populasi organisme yang memfermentasi laktosa, karena asam yang dihasilkan pada proses fermentasi dapat menurunkan pH media pada tingkat yang dapat menghambat pertumbuhan dan merusak *Salmonella*. Tripton soya broth mendukung suburnya pertumbuhan dari organisme yang sulit dalam pertumbuhannya tanpa penambahan serum dan sebagainya. Lactose broth dan tripton soya broth merupakan media yang direkomendasikan oleh AOAC sebagai media pra pengkayaan pada uji *Salmonella* (Oxoid Manual, 1995).

Tahap pengkayaan selektif yaitu meningkatkan jumlah populasi *Salmonella* juga menghambat pertumbuhan organisme yang lain dengan menggunakan media *selective enrichment broth*. Jenis penghambat yang digunakan dalam media ini adalah garam empedu, tetratitonat, dan natrium selenite. Jenis media *selective enrichment* yang digunakan misalnya selenite cystine broth (SCB).

Rappaport-Vassidialis (RV) juga direkomendasikan sebagai media pengkayaan selektif untuk mengisolasi *Salmonella* dari bahan pangan dan sampel yang diambil dari lingkungan. Memodifikasi RV broth dengan cara menurunkan konsentrasi *malachite green* dan menaikkan suhu inkubasi sampai 43 °C sehingga menghasilkan RV broth yang lebih unggul daripada media pengkayaan selektif *Salmonella* lainnya, terutama bila inokulasi dari *pre-enrichment broth* yang digunakan dalam jumlah sedikit (Oxoid Manual, 1995).

Tahap isolasi yaitu memisahkan bakteri yang akan diuji dari mikroba lainnya. Media yang biasa digunakan untuk isolasi *Salmonella* adalah *Hektoen Enteric Agar* (HEA), *Xylose Lysine Desoxycholate Agar* (XLDA), dan *Bismuth Sulfite Agar* (BSA) (Anonim, 1995). Dalam menggunakan media plating tersebut perlu diketahui kelebihan dan kekurangan dari masing-masing media. Penggunaan ketiga media (HEA, XLDA, BSA) tetap diperlukan secara bersamaan untuk isolasi *Salmonella* karena masing-masing media bisa saling menutupi kekurangan dari media yang lain. Kelebihan dan kekurangan dari masing-masing media isolasi tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelebihan dan kekurangan media isolasi *Salmonella*\*)

Media	Kelebihan	Kekurangan
HE Agar	Baik untuk membedakan <i>Salmonella</i> yang tipikal, bisa juga digunakan untuk <i>Shigella</i>	Tidak cukup selektif
XLD Agar	Baik untuk membedakan <i>Salmonella</i> yang tipikal, bisa juga digunakan untuk <i>Shigella</i>	Tidak cukup selektif
BS Agar	Bisa mendeteksi <i>S. Typhi</i> dan fermentasi laktosa dari <i>Salmonella</i>	Penampakan koloni pada media berubah-ubah

\*) Anonim (1995)

Pemakaian satu media saja juga tidak akan menjamin bahwa analisis yang dilakukan akurat, karena masing-masing dari media tersebut memiliki agen selektif dan sistem identifikasi yang berbeda-beda seperti tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Agen selektif dan sistem identifikasi pada media isolasi *Salmonella*\*)

Media	Agen selektif	Sistem identifikasi
HE Agar	Garam empedu <i>Novobiocin-optimal</i>	Fermentasi laktosa, sukrosa dan salicin Produksi H <sub>2</sub> S
XLD Agar	<i>Deoxycholate</i>	Fermentasi laktosa, sukrosa dan xylosa Produksi H <sub>2</sub> S Dekarboksilasi lysin
BS Agar	<i>Bismuth sulfite</i> <i>Brilliant green</i>	Reduksi sulfit-sulfida dengan adanya karbohidrat terfermentasi

\*) Anonim (1995)

Tahap konfirmasi terdiri dari konfirmasi biokimia dan serologi. Konfirmasi biokimia menggunakan media agar miring *Triple Sugar Iron* (TSI) Agar dan *Lysine Iron* Agar (LIA) untuk uji *Salmonella*. Hal ini untuk memastikan apakah koloni yang dicurigai sebagai *Salmonella* pada tahap sebelumnya menunjukkan aktivitasnya sebagai *Salmonella* dengan cara melihat pertumbuhannya pada media TSI dan LIA tersebut. Hasil positif di TSI dan LIA ini selanjutnya dikonfirmasi lagi dengan rapid test kit API 20E untuk memastikan lagi apakah koloni yang diduga sebelumnya positif sebagai *Salmonella*. Tiap strip API 20E ini terdiri dari 20 *mikrotube* yang mengandung substrat terdehidrasi. Pada uji ini, suspensi bakteri diinokulasikan kedalam tiap strip dengan pengisian yang berbeda sesuai dengan kode tulisan. Selama inkubasi, metabolismenya menghasilkan perubahan warna secara spontan atau dengan penambahan reagen. Komposisi tiap strip dan reaksi yang terjadi setelah masa inkubasi dibaca dengan menggunakan buku API 20E yang disajikan secara lengkap pada Lampiran 1. Pada umumnya *Salmonella* memiliki kombinasi ONPG negatif, sitrat (CIT) positif, dan indol (IND) negatif sehingga bisa diidentifikasi.

## 2. Serologi *Salmonella*

Bakteri yang termasuk dalam genus *Salmonella* tidak dapat dibedakan hanya dari sifat-sifat biokimia dan morfologinya. Oleh karena itu, perlu diidentifikasi secara serologik, berdasarkan skema Kauffmann-White yang membedakan *Salmonella* berdasarkan sifat-sifat antigeniknya (Supardi dan Sukamto, 1999). Klasifikasi serologi *Salmonella* itu sendiri dimulai oleh Kauffmann pada awal tahun 1940-an (Kauffmann, 1944 di dalam Jay, 2000).

Antigen adalah suatu komponen protein dengan BM (berat molekul) tinggi, jika disuntikkan ke dalam tubuh manusia atau hewan dapat menstimulir produksi antibodi di dalam tubuh. *Salmonella* dan genus-genus lainnya di dalam famili *Enterobacteriaceae* mempunyai beberapa antigen,

diantaranya antigen O (somatik), H (flagela), K dan Vi (kapsul) (Supardi dan Sukamto, 1999).

Untuk menentukan jenis antigen tersebut, dipakai antiserum spesifik. Antigen O dan H *Salmonella* ditemukan juga pada golongan Arizona; Antigen O *Salmonella* juga ditemukan pada beberapa strain *Escherichia*, *Shigella*, *Citrobacter* dan *Proteus*. Antigen yang terdapat pada *Salmonella* adalah : antigen O (antigen somatik, Ohne Hauch), H (Hauch, antigen flagela), Vi (antigen keganasan), M (antigen mukoid), antigen fimbria, dan antigen R (antigen pada mutan R) (Supardi dan Sukamto, 1999).

Antigen O (somatik) terdiri dari lipopolisakarida yang mengandung glukosamin dan terdapat pada dinding sel bakteri Gram negatif. Huruf O berasal dari bahasa Jerman yaitu kata (“Ohne Hauch”) yang berarti tanpa film. Antigen ini bersifat hidrolitik, sehingga terbentuk suspensi yang stabil dan homogen dalam larutan garam; memungkinkan bentuk yang menetap dari suatu bakteri, terdapat kurang lebih 65 jenis antigen O; tahan panas, tidak dipengaruhi oleh pemanasan 100 °C selama 2.5 jam dan; tahan alkohol, tetap hidup pada pemberian etanol 96% pada suhu 37 °C selama 4 jam (Supardi dan Sukamto, 1999).

Antigen H terdapat pada flagela dan ditemukan pada bakteri yang berflagela. Antigen ini merupakan suatu protein yang disebut flagelin, bersifat termolabil. Antigen H berasal dari bahasa Jerman yaitu “Hauch” yang berarti film. Adanya film ini merupakan ciri pertumbuhan bakteri yang mempunyai flagela. Antigen ini ada 2 kelompok yaitu fase I (antigen yang spesifik) dan fase II (antigen non spesifik). Antigen H bersifat tidak tahan panas dan cepat rusak pada suhu diatas 60 °C. Pada suhu 100 °C selama 30 menit, seluruh flagela akan rusak, tetapi flagela yang rusak tetap bersifat imunogenik (Supardi dan Sukamto, 1999).

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### A. BAHAN DAN ALAT

##### 1. Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun selada segar bagian dalam yang diperoleh di kota Bogor, yaitu Pasar Bogor, Pasar Anyar, Pasar Merdeka, Pasar Gunung Batu dan Pasar Jambu Dua yang berasal dari lima pedagang yang berbeda di tiap pasar.

##### 2. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah Natrium klorida (NaCl) untuk pembuatan larutan garam fisiologis 0.85%, alkohol, spiritus, aquades, dan pereaksi API 20E (Bio-Merieux).

##### 3. Media

Media-media yang digunakan untuk analisis adalah *Plate Count Agar* (PCA) untuk uji kuantitatif total mikroba, *Lactose Broth* (LB), *Selenite Cystine Broth* (SCB), *Hektoen Enteric Agar* (Difco), *Xylose Lysine Desoxycholate Agar* (Merck), *Bismuth Sulfite Agar* (Merck), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Lysine Iron Agar* (Difco), dan perangkat API 20E (Bio-Merieux) untuk uji kualitatif *Salmonella* pada selada segar.

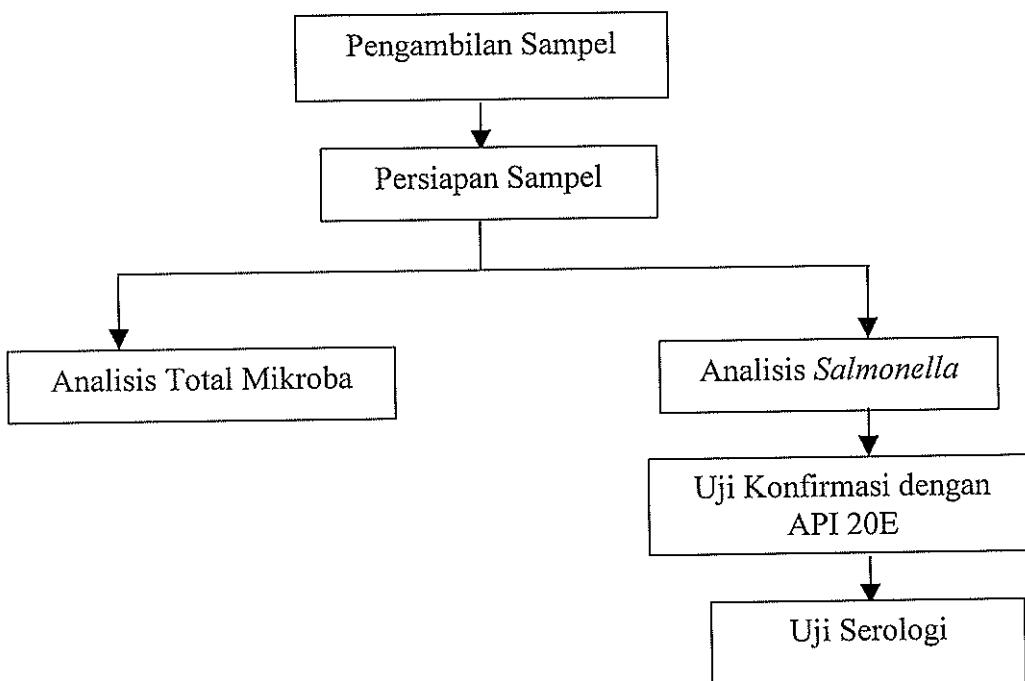
##### 4. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, oven, inkubator 37 °C dan 55 °C, *stomacher*, *hot plate*, vortex, mikropipet dan tips, timbangan, tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, batang pengaduk,

pipet, bunsen, ose tegak, jarum ose, pinset, bulp, plastik steril, pisau, kapas dan botol semprot.

## B. METODE PENELITIAN

Metode yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi pengambilan sampel, persiapan sampel untuk analisis total mikroba dan analisis *Salmonella* dengan dua kali ulangan. Secara garis besar, diagram alir metode penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram alir metode penelitian

### 1. Pengambilan Sampel

Selada segar dibeli di pasar tradisional di daerah Bogor dan dibawa dengan menggunakan kemasan plastik. Jika tidak digunakan segera, selada dimasukkan ke dalam lemari pendingin ± 4 jam untuk mempertahankan

kesegaran selada. Setelah itu persiapan selada segera dilakukan untuk analisis total mikroba dan analisis kualitatif *Salmonella*.

## 2. a. Persiapan Sampel untuk Analisis Total Mikroba

Selada segar diambil secara acak, ditimbang sebanyak 50 g dan dimasukkan ke dalam kantong plastik steril kemudian ditambahkan 450 ml larutan pengencer secara aseptis. Selanjutnya sampel dihancurkan dalam *stomacher* selama 120 detik sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ . Dari pengenceran tersebut dibuat beberapa tingkat pengenceran lagi sampai tingkat pengenceran yang diperkirakan menghasilkan jumlah koloni antara 1-300 dan dilakukan pemupukan secara duplo.

## b. Analisis Total Mikroba

Satu ml sampel dipipet dari pengenceran yang dikehendaki ke dalam cawan petri. Sebanyak  $\pm$  12-15 ml media PCA dituang ke dalam cawan petri dan segera setelah penuangan agar, cawan petri digerakkan di atas meja secara hati-hati untuk menyebarkan sel-sel mikroba secara merata, yaitu dengan gerakan melingkar atau seperti angka delapan. Setelah agar membeku, cawan diinkubasikan dengan posisi terbalik pada suhu 35 °C selama 48  $\pm$  2 jam dan jumlah koloni yang tumbuh pada cawan dihitung berdasarkan Standard Plate Count.

## 3. Analisis *Salmonella* (AOAC, 1995)

Sebanyak 25 g sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam *stomacher*. Ke dalam *stomacher* ditambahkan 225 ml *Lactose Broth* steril dan dihancurkan selama 120 detik. Sampel yang telah dihancurkan dengan *stomacher* dipindahkan ke dalam erlenmeyer steril dan dibiarkan selama 60  $\pm$  5 menit pada suhu ruang dalam keadaan tertutup kemudian diinkubasi selama 24  $\pm$  2 jam pada suhu 35 °C.

Sebanyak 1 ml sampel diambil dengan pipet dan dituang ke dalam 10 ml medium *enrichment Selenite Cystine Broth* (SCB) dan dikocok, kemudian tabung diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 ± 2 jam. Adanya pertumbuhan bakteri ditandai dengan kekeruhan warna media.

Tabung SCB yang positif dikocok (diletakkan di atas *vortex*), kemudian diambil satu ose dan digoreskan dengan cara gores kuadran pada media *Hektoen Enteric Agar* (HEA), *Xylose Lysine Desoxycholate Agar* (XLDA), dan *Bismuth Sulfite Agar* (BSA). Inkubasi dilakukan selama 24 ± 2 jam pada suhu 35 °C. Koloni tipikal pada media memiliki ciri-ciri seperti tertera pada Tabel 3.

Jika koloni tipikal *Salmonella* tidak ada, dicari koloni *Salmonella* yang tidak tipikal sebagai berikut :

- a. Pada media HEA dan XLDA, beberapa kultur *Salmonella* yang tidak tipikal memproduksi koloni kuning dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya. Jika koloni yang tipikal tidak muncul setelah inkubasi 24 ± 2 jam, diambil 2 atau lebih koloni yang tidak tipikal tersebut.
- b. Pada media BSA, beberapa galur yang tidak tipikal memproduksi koloni hijau dengan sedikit atau tanpa dikelilingi warna gelap pada media. Jika koloni yang tipikal tidak terdapat, maka tidak diambil koloninya, tetapi diinkubasi lagi selama 24 ± 2 jam. Jika koloni yang tipikal belum muncul juga, maka koloni yang tidak tipikal diambil setelah diinkubasi 48 ± 2 jam.

Koloni tipikal atau non tipikal yang tumbuh pada media *Hektoen Enteric Agar* (HEA), *Xylose Lysine Desoxycholate Agar* (XLDA), dan *Bismuth Sulfite Agar* (BSA), diinokulasikan dengan jarum ose steril pada agar miring TSI dengan menggores dan menusukkannya. Tanpa pembakaran lagi, ose diinokulasikan pada LIA miring dengan cara ditusuk dua kali dan digoreskan. Karena reaksi *lysine decarboxylation* harus benar-benar anaerob, maka tusukan pada media LIA harus mempunyai kedalaman sedikitnya 4 cm.

Tabel 3. Koloni tipikal *Salmonella* pada beberapa media\*

Media	Koloni tipikal <i>Salmonella</i>
<i>Hektoen Enteric Agar</i> (HEA)	Warna biru kehijauan, dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya, beberapa akan tampak sebagai koloni yang besar, berwarna hitam mengkilap ditengahnya atau tampak sebagai koloni yang hampir semuanya berwarna hitam.
<i>Xylose Lysine Desoxycholate Agar</i> (XLDA)	Warna merah muda dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya, beberapa mungkin tampak sebagai koloni yang besar, berwarna hitam mengkilap ditengahnya atau tampak sebagai koloni yang hampir semuanya berwarna hitam.
<i>Bismuth Sulfite Agar</i> (BSA)	Warna coklat, abu-abu atau hitam, kadang tampak berwarna kilau metalik. Sekeliling koloni biasanya akan berwarna coklat pada awalnya dan akan menjadi hitam dengan bertambahnya waktu inkubasi, yang disebut <i>halo effect</i> .

\*AOAC (1995)

Inkubasi media agar miring TSI dan LIA dilakukan pada suhu 35 °C selama  $24 \pm 2$  jam. Tabung ditutup secara longgar untuk memelihara kondisi aerobik pada waktu inkubasi agar miring dan mencegah produksi  $\text{H}_2\text{S}$  berlebih.

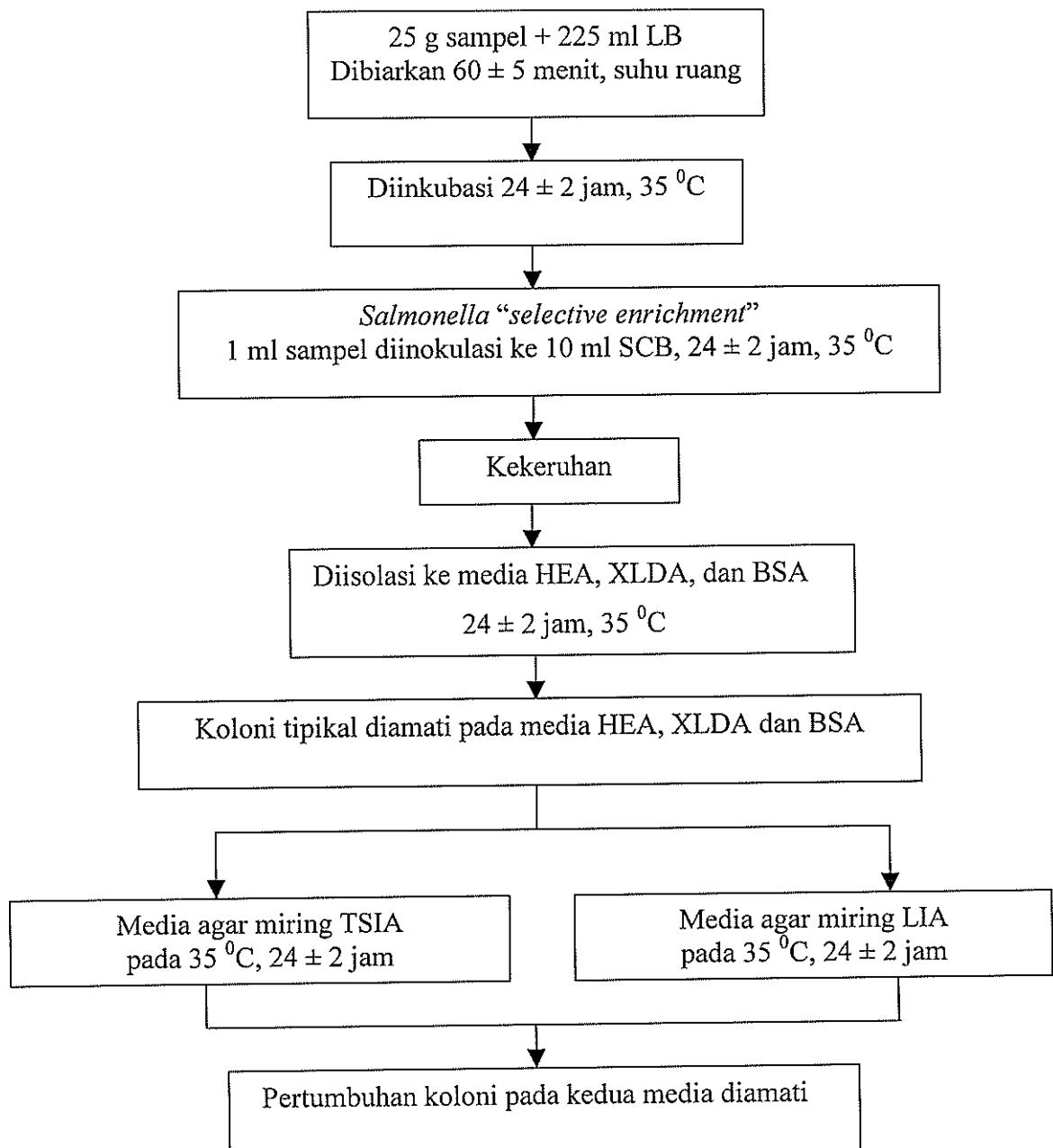
Reaksi spesifik *Salmonella* secara tipikal terjadi jika pada permukaan media TSI terbentuk warna merah (reaksi basa), dan bagian dasar media berwarna kuning (reaksi asam), produksi gas, dengan atau tanpa produksi  $\text{H}_2\text{S}$  (kehitaman pada agar). Pada LIA, *Salmonella* secara tipikal akan memberikan reaksi basa (warna ungu) di dasar tabung. Warna kuning terang pada dasar tabung menunjukkan bahwa reaksi menghasilkan asam (negatif). Beberapa kultur *Salmonella* memproduksi  $\text{H}_2\text{S}$  pada LIA. Beberapa yang bukan kultur *Salmonella* menghasilkan reaksi warna merah bata pada media LIA miring. Koloni *Salmonella* jika TSI atau LIA positif, reaksi biokimianya seperti tertera pada Tabel 4. Secara garis besar, diagram alir identifikasi *Salmonella* pada selada segar dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 4. Reaksi biokimia pada *Salmonella*\*

Jenis uji atau substrat	Hasil		Reaksi spesies <i>Salmonella</i> <sup>a)</sup>
	Positif	Negatif	
Glukosa (TSI)	Dasar kuning	Dasar merah	+
<i>Lysine decarboxylase</i> (LIA)	Dasar ungu	Dasar kuning	+
H <sub>2</sub> S (TSI dan LIA)	Kehitaman	Tidak ada kehitaman	+

Keterangan : <sup>a)</sup>+, 90% atau lebih, positif pada 1 atau 2 hari

\*AOAC (1995)



Gambar 3. Diagram alir identifikasi *Salmonella* pada selada segar (AOAC, 1995)

#### 4. Uji Konfirmasi dengan perangkat API 20E

Koloni tipikal pada TSI dan LIA disimpan pada media NA miring, kemudian digores kuadran pada media NA cawan petri. Koloni yang terpisah diambil ( $\pm$  3 koloni) dan dilarutkan ke dalam 5 ml NaCl 0.85%. Suspensi bakteri dipipet dan diisikan ke dalam *mikrotube* (tabung-tabung mikro) strip API 20E, dengan jumlah pengisian sesuai dengan kode tulisan. Strip API 20E diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu  $36 \pm 2$   $^{\circ}\text{C}$  atau 48 jam jika *mikrotube* pada satu strip API 20E menunjukkan hasil positif kurang dari 3 *mikrotube*. Setelah *mikrotube* memberikan lebih dari 3 hasil positif pada satu strip-nya, diberi tambahan perekaksi pada kode tulisan TDA, IND, VP dan NIT. Hasil identifikasi diperoleh dalam bentuk profil numerik. Kemudian hasil identifikasi dibaca menggunakan buku API 20E dengan melihat profil numerik pada daftar profilnya atau disket program API 20E (api lab). Contoh blanko uji disajikan pada Lampiran 2.

#### 5. Uji Serologi (Balai Penelitian Veteriner, 1985)

Isolat *Salmonella* yang akan diuji harus diperbarui dengan cara ditumbuhkan pada NA miring dan diinkubasi pada suhu  $37$   $^{\circ}\text{C}$  selama  $24 \pm 2$  jam. Kemudian dibuat suspensi dengan menambahkan  $\pm 0.5$  ml air destilata steril, dengan tujuan membiarkan pertumbuhan bakteri lepas dari agar.

Satu ose penuh suspensi bakteri diletakkan diatas gelas preparat yang sudah disterilkan dengan jalan memanaskan diatas api bunsen. Digunakan dua ose secara berganti-ganti, 1 ose penuh antiserum yang sesuai yang telah disediakan dicampur dengan satu ose suspensi bakteri yang telah diteteskan pada gelas preparat. Gelas preparat kemudian digoyang-goyangkan dengan hati-hati dan aglutinasi yang terjadi dicatat pada kertas kerja yang telah disediakan. Aglutinasi ditandai dengan adanya butiran-butiran seperti pasir. Yang diperiksa pertama kali adalah antigen

“O” atau somatik dengan antiserum grup B, C, D dan E yang menjadi dasar dari serotyping-nya.

Apabila salah satu grup antiserum ini menghasilkan aglutinasi, selanjutnya dilakukan uji dengan antiserum faktor tunggal yang sesuai sebagai berikut :

Untuk Grup B : diuji dengan antiserum 4, 5, 12, 27

Grup C : diuji dengan antiserum 7, 8, 14, 20

Grup D : diuji dengan antiserum 12, 46

Grup E : diuji dengan antiserum 10, 15, 19, 34

Uji kemudian dilanjutkan dengan penentuan antigen H sebagai fase I. Apabila terjadi reaksi aglutinasi maka diuraikan lagi dengan antiserum faktor tunggal yang sesuai.

Untuk polivalen H Grup A : diuji dengan antiserum a, b, c, d, i

Grup B : diuji dengan antiserum k, lv, r, y, z

Grup C : diuji dengan antiserum 2, 5, 6, 7

Grup E : diuji dengan antiserum h, x, Z<sub>15</sub>

Grup G : diuji dengan antiserum gp, f, m, s, t → u, q, p

Grup Z : diuji dengan antiserum Z<sub>6</sub>, Z<sub>10</sub>, Z<sub>4</sub>, Z<sub>23</sub>, Z<sub>29</sub>, Z<sub>38</sub>

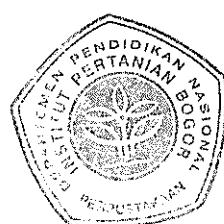
Bila Z<sub>24</sub>, Z<sub>23</sub> (+) → Z<sub>23</sub>, Z<sub>24</sub>, Z<sub>32</sub>

Untuk menentukan fase II-nya, dilakukan Jameson plate dengan cara memotong media Nutrien Agar cawan secara melintang selebar 6 mm sehingga terjadi selokan. Kertas saring diletakkan melintang diatas selokan dan diberi 1 ose antiserum yang homolog dengan antigen yang telah ditentukan di atas kertas saring tepat di atas selokan. Suspensi bakteri yang diuji diteteskan pada kertas saring berdekatan dengan selokan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 ± 2 jam. Penentuan fase II dapat dilihat secara jelas pada Lampiran 4. Selanjutnya Jameson plate diperiksa apakah terjadi pertumbuhan pada kertas saring, jika tidak terjadi pertumbuhan diinkubasi lagi pada suhu 37 °C selama 24 ± 2 jam. Selanjutnya setelah didapatkan antigen “O” atau somatik, fase I dan fase II maka dibaca hasil serotipe-nya berdasarkan skema Kauffmann-White.

Contoh hasil serotipe *Salmonella* berdasarkan skema Kauffmann-White disajikan pada Lampiran 3.

### **C. EVALUASI PROSEDUR PENGUJIAN *SALMONELLA***

Evaluasi prosedur pengujian *Salmonella* ini dilakukan dengan menganalisis kesesuaian antara koloni-koloni tipikal maupun non tipikal yang terbentuk pada media HEA, XLDA dan BSA dengan hasil uji konfirmasi biokimia pada media TSI dan LIA, uji dengan perangkat API 20E dan uji serologi. Data yang ada dinyatakan dalam persen (%), yaitu jumlah koloni yang teridentifikasi diduga sebagai *Salmonella* dalam TSI dan LIA dibagi dengan jumlah koloni tipikal atau non tipikal yang terbentuk pada media HEA, XLDA dan BSA. Selanjutnya koloni yang diduga sebagai *Salmonella* tersebut diuji dengan rapid test kit API 20E. Hasil yang diperoleh dicatat dan dikonfirmasi dengan tes serologi bila diperlukan untuk menentukan serotipe *Salmonella*-nya.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. ANALISIS MUTU MIKROBIOLOGI SELADA SEGAR

Sayuran merupakan bagian tanaman yang selama pertumbuhannya selalu kontak dengan lingkungan sehingga memungkinkannya tercemar oleh mikroba. Di Indonesia, kandungan mikroba pada sayuran yang diperoleh dari petani maupun pedagang sangat tinggi. Susilawati (2002) menemukan bahwa beberapa sayur segar yang dipanen dari Bogor dan Cianjur mengandung total mikroba antara  $2.1 \times 10^5$  -  $4.4 \times 10^7$  CFU/g.

Mutu mikrobiologi suatu produk pangan perlu diketahui untuk melihat tingkat cemaran mikroba pada produk pangan tersebut, sehingga dapat diketahui resiko keamanannya apabila dikonsumsi (Ruslan, 2003). Dalam penelitian ini dianalisis mutu mikrobiologi selada segar yang dijajakan di beberapa pasar tradisional daerah Bogor. Sampel selada diambil pada pagi hari, karena diperkirakan sampel masih dalam keadaan segar pada pagi hari. Untuk mengetahui mutu mikrobiologi dari selada tersebut, maka dilakukan analisis total mikroba dan analisis *Salmonella* sebagai indikator keamanannya.

#### 1. Total Mikroba Selada Segar

Jumlah total mikroba pada sayuran segar dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu jenis sayuran, lingkungan asal penanaman, perlakuan pada saat pra panen dan pasca panen, sistem pengangkutan, cara penjualan, waktu penjualan, dan lingkungan tempat penjualan. Kontaminasi kebanyakan berasal dari tanah, air dan debu. Tingkat kontaminasi memegang peranan terhadap jumlah dan jenis mikroorganisme (Susilawati, 2002).

Jumlah total mikroba juga dapat dijadikan sebagai indikator kebusukan yang mencerminkan mutu dan sebagai indikator daya simpan

bahan pangan. Kontaminasi mikroba pada makanan dapat menyebabkan perubahan kimia dan menimbulkan bau tidak sedap (Ruslan, 2003).

Hasil analisis kuantitatif mutu mikrobiologi sayuran segar di beberapa pasar di daerah Bogor terhadap rata-rata jumlah total mikroba pada selada segar dapat dilihat pada Tabel 5 dan data selengkapnya disajikan pada Lampiran 5 sampai dengan Lampiran 9.

Tabel 5. Rata-rata jumlah total mikroba pada selada segar di beberapa pasar di daerah Bogor\*)

Asal selada	Rata-rata TPC ( $\log_{10}$ CFU/g)				
	Pedagang I	Pedagang II	Pedagang III	Pedagang IV	Pedagang V
Ps. Bogor	5.90	6.04	6.08	5.92	5.66
Ps. Anyar	5.87	5.87	6.09	6.12	6.21
Ps. Gn. Batu	6.16	6.26	6.03	6.19	6.21
Ps. Merdeka	7.06	7.12	7.11	7.08	7.07
Ps. Jambu Dua	6.87	7.04	6.98	6.98	6.95

\*) (dua ulangan)

Dengan membandingkan jumlah total mikroba dari kelima pasar diketahui bahwa rata-rata jumlah total mikroba tertinggi pada selada segar ditemukan di Pasar Merdeka yang berkisar antara  $7.06 \log_{10}$  CFU/g sampai  $7.12 \log_{10}$  CFU/g. Tingginya jumlah total mikroba pada selada dapat disebabkan oleh berbagai faktor, baik pada saat penanganan prapanen sampai dengan pemasaran di pasar. Selain itu, pada saat pemasaran selada ditumpuk begitu saja dengan sayuran lain, sehingga dapat mengakibatkan kerusakan mekanis, mempercepat kerusakan mikrobiologi dan memungkinkan terjadinya kontaminasi silang.

Penjualan selada di Pasar Merdeka dilakukan oleh para pedagang di udara terbuka dengan dihamparkan pada permukaan tanah dengan menggunakan alas plastik, berbeda dengan pasar tradisional lainnya yang menjual selada segarnya pada kios. Dengan demikian kondisi pasar yang buruk tingkat sanitasinya juga mempengaruhi jumlah total mikroba pada selada. Letak tempat berjualan di Pasar Merdeka juga dekat dengan jalan raya dengan kualitas udara yang buruk, sehingga dapat terjadi akumulasi mikroba dari udara sekitarnya.

Umumnya kandungan air pada sayuran sekitar 88%, karbohidrat 8.6%, protein 1.9%, lemak 0.3% dan kandungan vitamin dan zat gizi lainnya tidak lebih dari 1% (Jay, 2000). Tingginya kandungan air pada sayuran dapat merangsang pertumbuhan bakteri, sehingga tidaklah mengherankan bahwa jumlah total mikroba dalam selada juga tinggi.

Penelitian Susilawati (2002) menunjukkan bahwa total mikroba sayuran segar di tingkat pedagang pada tauge, kol, wortel dan kacang panjang berturut-turut adalah  $8.32 \log_{10}$  CFU/g,  $7.18 \log_{10}$  CFU/g,  $6.90 \log_{10}$  CFU/g dan  $7.52 \log_{10}$  CFU/g. Isyanti (2001) menemukan bahwa beberapa sayuran lalap yang diperoleh di tingkat pedagang di daerah Bogor mengandung total mikroba yang tinggi yaitu antara  $1.0 \times 10^7$  -  $1.3 \times 10^8$ . Dari sayuran lalap yang dianalisis ternyata selada mengandung jumlah total mikroba yang tertinggi. Dengan demikian selada yang dianalisis dari Pasar Merdeka masih lebih rendah daripada yang dilaporkan oleh Isyanti (2001) karena perbedaan pasar tempat pengambilan selada segar.

Rata-rata jumlah total mikroba yang rendah pada selada segar ditemukan di Pasar Bogor yang berkisar antara  $5.66 \log_{10}$  CFU/g sampai  $6.08 \log_{10}$  CFU/g kemungkinan besar disebabkan oleh cara penjualan seladanya yaitu di kios-kios, tidak dihamparkan begitu saja pada permukaan tanah, sehingga secara visual selada segar yang dijajakan juga tampak bersih.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah total mikroba pada selada segar yang diuji yaitu antara  $5.66 \log_{10}$  CFU/g sampai  $7.12 \log_{10}$  CFU/g. Standar TPC (*Total Plate Count*) berdasarkan ICMSF (1986) untuk sayuran yang akan dimakan mentah adalah  $n=5$ ,  $c=3$ ,  $m=10^5$  dan  $M=10^6$ , artinya maksimal 3 sampel dari 5 sampel yang dianalisis boleh mengandung total mikroba  $10^5$ - $10^6$  CFU/g. Meskipun demikian, hasil penelitian yang diperoleh sesuai dengan hasil penelitian di luar negeri yang melaporkan bahwa TPC (*Total Plate Count*) dari sayuran segar sekitar  $10^5$ - $10^8$  CFU/g (Jay, 2000).

## 2. Analisis *Salmonella*

*Salmonella* merupakan bakteri yang sering mengkontaminasi berbagai jenis makanan termasuk sayuran. Kontaminasi *Salmonella* dapat berasal dari alat, pekerja, ternak (*carrier*), produk-produk unggas, binatang penggerat, binatang piaraan, serangga dan air buangan (Jenie, 1988). *Salmonella* merupakan jenis patogen yang dapat menyebabkan keracunan pangan.

Pada penelitian ini dilakukan uji lengkap *Salmonella* yang terkandung secara alami pada selada segar untuk mengetahui ada tidaknya *Salmonella*. Adanya *Salmonella* menunjukkan kontaminasi feses dari manusia atau hewan melalui air irigasi, air pencucian sayuran dan sebagainya. Berdasarkan survei yang dilakukan oleh Susilawati (2002), penyiraman dan pencucian tauge dilakukan dengan menggunakan air kali. Setelah pemanenan, wortel juga dicuci dengan air kali dan kacang panjang diangkut dari petani ke pasar tanpa menggunakan alas apapun, sehingga hal tersebut memungkinkan *Salmonella* terdapat pada sayuran segar.

Keputusan Ditjen POM No. 03726/B/SK/VII/1989 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Makanan menyebutkan bahwa pada sayuran dan hasil olahannya tidak boleh mengandung *Salmonella* dalam 25 gram sampel (*Salmonella* negatif). Peraturan *Public Health Laboratory Service* (2000) di dalam Sagoo *et al* (2003) tentang penilaian kualitas mikrobiologi sayuran segar juga menyebutkan bahwa batas aman *Salmonella* adalah tidak terdeteksi dalam 25 gram sampel sayuran segar.

Analisis *Salmonella* dilakukan pada 50 sampel selada segar yang diperoleh dari beberapa pasar tradisional di daerah Bogor. Dari 50 sampel yang dianalisis terdapat 5 sampel (10%) yang diduga *Salmonella* ketika dianalisis lebih lanjut. Hasil yang diperoleh jauh lebih rendah dengan hasil penelitian sebelumnya karena dalam penelitian ini menggunakan uji yang lebih lengkap, yaitu menggunakan perangkat API 20E dan uji serologi. Susilawati (2002) melaporkan bahwa *Salmonella* selalu diisolasi dari sayuran segar (kol, wortel dan kacang panjang) yang diperoleh di tingkat

petani. Isyanti (2001) juga melaporkan bahwa *Salmonella paratyphi A* juga ditemukan pada daun kemangi dan daun poh-pohan yang dijajakan di tingkat pedagang di pasar tradisional daerah Bogor.

Dari kelima sampel yang diduga *Salmonella* tersebut, hanya 2 sampel yang hasilnya “*excellent identification*” ketika dibaca di API 20E, yaitu sampel S-1 dan S-2 dari media HEA tipikal yang positif di TSI. Kelima sampel tersebut diperoleh dari koloni tipikal pada media spesifik HEA, XLDA dan BSA. Hasil positif dari kelima sampel yang memerlukan konfirmasi uji serologi lebih lanjut dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil positif yang memerlukan konfirmasi uji serologi

Sampel	Asal isolat	Ciri koloni	Reaksi isolat pada		
			TSI	LIA	API 20E
S-2	koloni tipikal pada BSA	abu-abu kehitaman	-	+	<i>doubtful profile</i>
S-1	koloni tipikal pada HEA	biru kehijauan	+	-	<i>excellent identification</i> (% id 99.0)
S-1	koloni tipikal pada HEA	biru kehijauan	-	+	<i>unacceptable profile</i>
S-2	koloni tipikal pada XLDA	merah muda	-	+	<i>unacceptable profile</i>
S-2	koloni tipikal pada HEA	biru kehijauan	+	-	<i>excellent identification</i> (% id 89.4)

Setelah dilakukan uji serologi lebih lanjut pada kelima sampel tersebut, ternyata hanya 2 sampel yang teridentifikasi sebagai *Salmonella* Weltevreden. Hasil uji serologi isolat yang diduga dapat dilihat pada Tabel 7. Berdasarkan Tabel 7, sampel yang teridentifikasi sebagai *Salmonella* Weltevreden yaitu S-1 dari Pasar Gunung Batu dan S-2 dari Pasar Jambu Dua. Hal ini berkaitan dengan Tabel 6 yang menunjukkan bahwa reaksi isolat pada API 20E yang hasilnya “*excellent identification*” saja yang berhasil ditentukan serotipnya.

Tabel 7. Hasil uji serologi isolat yang diduga *Salmonella*

No	Sampel	Asal Pasar	Serotipe
1	S-2	Ps. Merdeka	tidak dilakukan
2	S-1	Ps. Gunung Batu	<i>Salmonella</i> Weltevreden
3	S-1	Ps. Jambu Dua	Negatif
4	S-2	Ps. Jambu Dua	Negatif
5	S-2	Ps. Jambu Dua	<i>Salmonella</i> Weltevreden

Hasil uji serologi menunjukkan bahwa kedua sampel mempunyai O-grup : 3,10,[15], fase I : r, dan fase II : Z<sub>6</sub>, sehingga setelah dibaca dengan skema Kauffmann-White hasilnya adalah *Salmonella* Weltevreden. Skema Kauffmann-White yang menyatakan hasil uji serologi selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 9.

*Salmonella* Weltevreden merupakan serovar paling umum penyebab salmonellosis yang diisolasi dari manusia di Thailand. Perbandingan *Salmonella* Weltevreden di Thailand menurun dari 13.5% pada tahun 1993 menjadi 9.3% isolat pada tahun 1996. Sejak tahun 1999 mengalami peningkatan menjadi 18%, tetapi menurun menjadi 15.9% pada tahun 2001 dan 7.9% pada tahun 2002 ([www.cdc.gov/ncidod/eid/vol10no1/02-0781.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol10no1/02-0781.htm)).

*Salmonella* Weltevreden juga menyebabkan infeksi manusia di India selama awal tahun 1970-an. Sebelum tahun 1970, serovar ini terdapat <4% dari total salmonellosis pada manusia. Di awal 1970-an sejumlah infeksi karena *Salmonella* Weltevreden dilaporkan meningkat di India yaitu sekitar 29.1% ([www.cdc.gov/ncidod/eid/vol10no1/02-0781.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol10no1/02-0781.htm)).

Thong *et al* (2002) menemukan tipe yang sama dari *Salmonella* Weltevreden pada sayuran mentah di Malaysia. Sayuran mentah kemungkinan terkontaminasi oleh feses dan air. Studi baru-baru ini di Amerika Serikat melaporkan bahwa *Salmonella* Weltevreden merupakan serovar paling umum yang ditemukan pada kebanyakan *seafood* yang diimpor dari Thailand dan Malaysia.

Dengan demikian, 2 sampel dari 50 sampel selada segar (4%) yang dianalisis ternyata mengandung bakteri patogen, yaitu *Salmonella*

Weltevreden. Adanya *Salmonella* Weltevreden tersebut kemungkinan berasal dari kontaminasi feses manusia dan hewan. Meskipun jumlahnya kecil, tetapi mempunyai kemungkinan bahaya yang besar saat dikonsumsi manusia.

## **B. EVALUASI PROSEDUR PENGUJIAN *Salmonella***

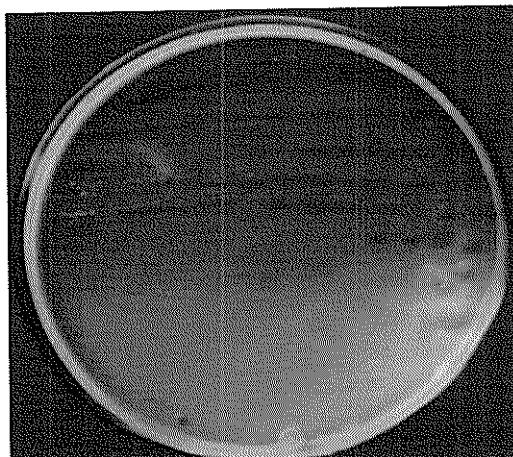
Pengujian *Salmonella* pada umumnya memerlukan tahap pra pengkayaan, pengkayaan selektif, isolasi dan konfirmasi (biokimia dan serologi). Pada penelitian ini digunakan media lactose broth pada tahap pra pengkayaan dan selenite cystine broth (SCB) pada tahap pengkayaan selektif (AOAC, 1995). Pada pengujian *Salmonella* dilakukan tahap pra pengkayaan pada media *Lactose Broth* (LB) untuk memperkaya populasi *Salmonella* karena *Salmonella* biasanya terdapat dalam jumlah kecil di dalam makanan. Selenite cystine broth (SCB) merupakan hasil penambahan selenite ke dalam cystine broth. Penambahan selenite menghasilkan hasil analisa yang lebih baik sebab dapat menurunkan efek toksitas dari natrium selenite terhadap mikroorganisme, sehingga mempertinggi pertumbuhan *Salmonella*. Pada media SCB hasil menunjukkan positif *Salmonella* karena terjadi kekeruhan dan SCB berubah menjadi warna merah sebagai akibat proses reduksi selenite (Oxoid Manual, 1995).

Pada tahap selanjutnya, digunakan tiga media spesifik untuk isolasi *Salmonella* yaitu *Hektoen Enteric Agar* (HEA), *Xylose Lysine Desoxycholate Agar* (XLDA), dan *Bismuth Sulfite Agar* (BSA). Koloni tipikal pada media HEA berwarna biru kehijauan, dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya, beberapa akan tampak sebagai koloni yang besar, berwarna hitam mengkilap ditengahnya atau tampak sebagai koloni yang hampir semuanya berwarna hitam. Koloni tipikal pada media XLD berwarna merah muda dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya, beberapa akan tampak sebagai koloni yang besar, berwarna hitam mengkilap ditengahnya atau tampak sebagai koloni yang hampir semuanya berwarna hitam. Koloni tipikal pada media HEA dan XLDA dapat dilihat pada Gambar 4 dan Gambar 5. Pada media HEA dan

XLDA, beberapa kultur *Salmonella* yang tidak tipikal memproduksi koloni kuning dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya. Jika koloni yang tipikal tidak muncul setelah inkubasi  $24 \pm 2$  jam, maka diambil koloni yang tidak tipikal tersebut.



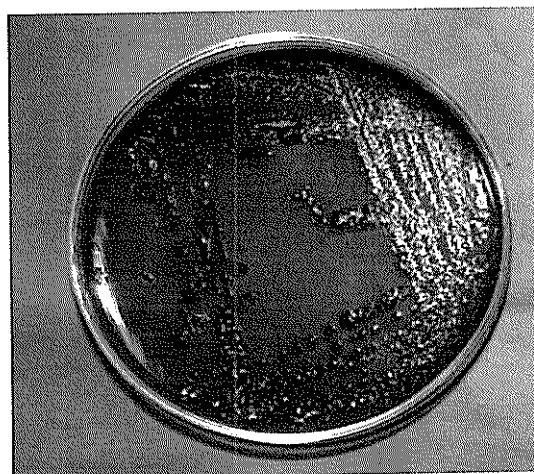
Gambar 4. Koloni tipikal pada HEA



Gambar 5. Koloni tipikal pada XLDA

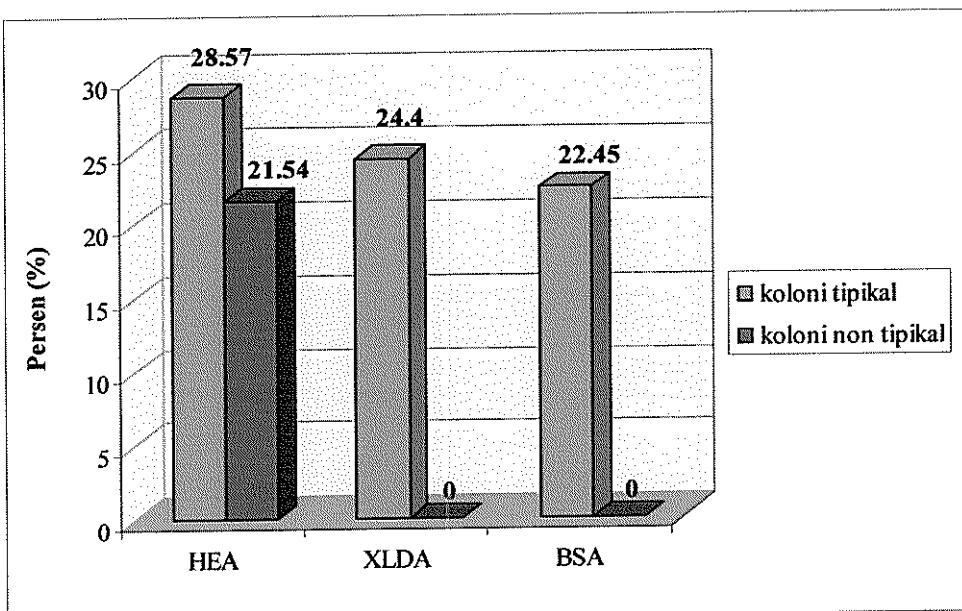
Koloni tipikal pada BSA berwarna coklat, abu-abu atau hitam, kadang tampak berwarna kilau metalik. Sekeliling koloni biasanya akan berwarna coklat pada awalnya dan akan menjadi hitam dengan bertambahnya waktu inkubasi, yang disebut *halo effect*. Jika tidak terdapat koloni yang tipikal, maka jangan diambil koloninya, tetapi inkubasi lagi selama  $24 \pm 2$  jam. Jika

koloni yang tipikal belum juga muncul, maka diambil koloni yang tidak tipikal setelah diinkubasi selama  $48 \pm 2$  jam tersebut. Koloni tipikal pada media BSA dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Koloni tipikal pada BSA

Koloni tipikal maupun tidak tipikal *Salmonella* yang diisolasi dari media HEA, XLDA dan BSA kemudian diinokulasi pada media *Triple Sugar Iron* (TSI) dan *Lysine Iron Agar* (LIA) untuk konfirmasi biokimia mengenai status koloni yang diisolasi tersebut dengan cara gores dan tusuk, kemudian diamati pertumbuhan koloninya. Dari ketiga media tersebut dianalisa jumlah koloni tipikal atau non tipikal yang paling banyak menghasilkan uji positif pada tahap konfirmasi biokimia pada media *Triple Sugar Iron* (TSI) dan *Lysine Iron Agar* (LIA). Gambar 7 menunjukkan persentase koloni yang diduga *Salmonella* setelah uji konfirmasi biokimia pada media TSI dan LIA. Data selengkapnya disajikan pada Lampiran 10 sampai dengan Lampiran 14.



Gambar 7. Persentase koloni yang diduga *Salmonella* setelah uji konfirmasi biokimia pada media TSI dan LIA terhadap jumlah koloni yang diisolasi dari media HEA, XLDA dan BSA

Berdasarkan Gambar 7, terlihat bahwa yang paling banyak menghasilkan uji positif konfirmasi biokimia pada media TSI dan LIA adalah koloni tipikal dari *Hektoen Enteric Agar* (HEA) dimana 10 dari 35 koloni tipikal (28.57%) diduga *Salmonella*. Hasil analisa juga menunjukkan bahwa 22 dari 90 koloni tipikal dari media XLDA (24.4%) diduga *Salmonella*, sedangkan dari media BSA diperoleh hasil bahwa 22 dari 98 koloni tipikal (22.45%) juga diduga *Salmonella*.

Dari koloni non tipikal yang diuji, ternyata hanya koloni non tipikal dari media HEA saja yang diduga *Salmonella* yaitu 14 dari 65 koloni non tipikal (21.54%). Dari media XLDA dan BSA tidak ada yang diduga *Salmonella* (0%) setelah koloni yang non tipikal diuji konfirmasi biokimia pada media TSI dan LIA. Berdasarkan hasil konfirmasi tersebut terlihat bahwa kemungkinan tertinggi mendapatkan koloni yang diduga sebagai *Salmonella* adalah dengan mengisolasi koloni tipikal maupun non tipikal dari HEA.

Tidak semua *Salmonella* akan tumbuh sama baiknya pada semua media cawan dan keberhasilan media untuk menekan tumbuhnya kontaminan juga berbeda. Proses *recovery* dari jenis *Salmonella* kemungkinan besar memerlukan dua atau lebih media cawan. Permasalahan salah mendeteksi

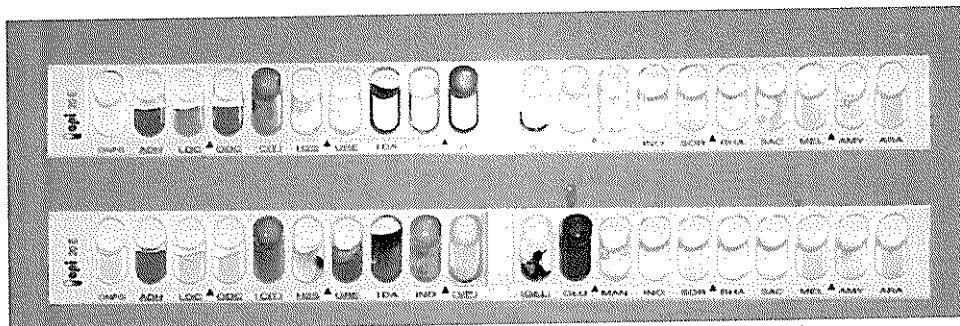
ketika melihat koloni pada media cawan juga dapat terjadi karena tidak ada media selektif agar yang secara penuh bersifat selektif (Oxoid Manual, 1995).

BSA memiliki keunggulan dapat mendeteksi *S. typhi* dan *Salmonella* yang dapat memfermentasi laktosa, namun keterbatasan media ini adalah penampakan koloni pada media yang berubah-ubah. Hal ini menyebabkan persentase koloni tipikal maupun non tipikal yang diduga sebagai *Salmonella* pada media BSA lebih rendah dibandingkan pada media HEA dan XLDA. Berdasarkan hasil konfirmasi diketahui koloni tipikal yang diduga sebagai *Salmonella* pada media HEA dan XLDA umumnya lebih besar yaitu 28.57% dan 24.4%, sedangkan pada media BSA yaitu 22.45%. Media HEA dan XLDA unggul dalam perbedaan strain *Salmonella* tipikal dan bisa juga untuk *Shigella*, tetapi tidak terlalu selektif (Oxoid Manual, 1995). Hal ini terlihat dari Gambar 8 bahwa koloni non tipikal dalam jumlah yang besar ditemukan pada media HEA sebesar 21.54%.

Secara umum penggunaan ketiga media ini tetap diperlukan untuk isolasi *Salmonella* karena masing-masing media bisa saling menutupi kekurangan media lain. Pemakaian satu media saja tidak akan menjamin bahwa analisis yang dilakukan akurat. Hal ini disebabkan dari ketiga media tersebut masing-masing mempunyai sistem identifikasi yang berbeda-beda dan mempunyai kekurangan dan kelebihan. Selain itu, ketiga media tersebut direkomendasikan oleh lembaga internasional AOAC dan FDA untuk digunakan bersama-sama dalam isolasi *Salmonella*.

Konfirmasi biokimia pada TSI ditandai dengan terbentuknya warna merah pada bagian atas dan hitam (terbentuknya  $H_2S$ ) pada dasar tabung dan terbentuknya gas. Pada LIA terbentuk koloni hitam pada media yang berwarna ungu ([www.jlndquist.net/general\\_micro/dfmultinf.html](http://www.jlndquist.net/general_micro/dfmultinf.html)).

Hasil yang positif pada TSI dan LIA selanjutnya dikonfirmasi dengan API 20E untuk memastikannya sebagai *Salmonella*. Dari 50 sampel yang dianalisis, ternyata ada 5 sampel (10%) yang diduga *Salmonella* setelah dikonfirmasi dengan API 20E dan perlu dilakukan uji serologi lebih lanjut. Hasil identifikasi *Salmonella* pada API 20E dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Hasil identifikasi *Salmonella* dengan API 20E  
(atas) *Salmonella Weltevreden*; (bawah) bukan *Salmonella*

API 20E merupakan rapid test kit untuk mengidentifikasi *Enterobacter* yang memberikan kemudahan untuk inokulasi dan membaca hasil uji yang relevan untuk semua famili *Enterobacteriaceae* dan bakteri Gram negatif tertentu. Pada masing-masing strip terdiri dari 20 *mikrotube* yang diinokulasi dengan suspensi NaCl 0.85% dari kultur murni. Pengisian masing-masing *mikrotube* jumlahnya sesuai dengan kode tulisan. *Mikrotube* yang diisi penuh berkode CIT, VP dan GEL, sedangkan *mikrotube* yang ditutup bagian atasnya dengan *mineral oil* untuk memacu terjadinya reaksi anaerobik berkode ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, dan URE.

Setelah diinkubasi dalam keadaan lembab selama 18-24 jam pada suhu 37 °C, reaksi perubahan warna dibaca (beberapa *mikrotube* diberi reagen sesuai dengan standar API 20E), dan reaksi diubah menjadi 7 digit kode. Kode-kode yang ada biasanya menunjukkan genus dan spesies setelah dibaca dengan program komputer.

Dari 5 sampel yang diduga *Salmonella* ketika diuji dengan API 20E, hanya 4 sampel yang dikonfirmasi dengan uji serologi untuk menentukan serotipe-nya. Hasil uji serologi isolat yang diduga *Salmonella* dapat dilihat pada Tabel 7 pada pembahasan sebelumnya. Hanya sampel yang hasilnya “*excellent identification*” saja pada API 20E yang berhasil ditentukan serotipenya, yaitu *Salmonella Weltevreden*. Dengan demikian, API 20E terbukti dapat mendeteksi adanya *Salmonella* dengan bantuan uji serologi lebih lanjut. Uji serologi dilakukan untuk mengetahui serotipe *Salmonella* dengan menentukan antigen O (somatik), fase I, dan fase II dari isolat yang diduga *Salmonella* ketika diuji dengan API 20E.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. KESIMPULAN

Analisis mutu mikrobiologi selada segar di beberapa pedagang di pasar tradisional daerah Bogor meliputi analisis mikroba secara kuantitatif untuk total mikroba dan analisis kualitatif untuk *Salmonella*. Analisis ini dilakukan pada selada segar yang diperoleh dari beberapa pasar tradisional di daerah Bogor. Sampling dilakukan sebanyak 50 sampel yaitu pada Pasar Bogor, Pasar Anyar, Pasar Merdeka, Pasar Gunung Batu, dan Pasar Jambu Dua.

Analisis mutu mikrobiologi selada segar di beberapa pasar tradisional di daerah Bogor menunjukkan bahwa rata-rata jumlah total mikroba pada selada segar yang diuji yaitu antara  $5.66 \log_{10}$  CFU/g sampai  $7.12 \log_{10}$  CFU/g. Standar TPC (*Total Plate Count*) berdasarkan ICMSF (1986) untuk sayuran yang akan dimakan mentah adalah  $n=5$ ,  $c=3$ ,  $m=10^5$  dan  $M=10^6$ , artinya maksimal 3 sampel dari 5 sampel yang dianalisis boleh mengandung total mikroba  $10^5$ - $10^6$  CFU/g.

Analisis kualitatif *Salmonella* menunjukkan bahwa dari 50 sampel selada segar yang dianalisis, terdapat 5 sampel (10%) yang diduga *Salmonella*. Hasil yang diperoleh jauh lebih rendah dari hasil-hasil sebelumnya karena analisis *Salmonella* yang dilakukan lebih lengkap. Tetapi setelah dilakukan uji serologi lebih lanjut, ternyata hanya 2 sampel (4%) yang teridentifikasi sebagai *Salmonella* Weltevreden. Adanya *Salmonella* diperkirakan karena terjadinya kontaminasi feses manusia dan hewan saat pra panen sampai rentang waktu penjualan.

Peluang diperolehnya koloni yang diduga sebagai *Salmonella* adalah dengan mengisolasi koloni tipikal dan non tipikal dari HEA. Hasil evaluasi prosedur pengujian menunjukkan bahwa media HEA lebih efektif digunakan sebagai media isolasi *Salmonella*. Meskipun demikian, isolasi koloni tipikal maupun non tipikal dari media spesifik lain (XLDA dan BSA) harus tetap dilakukan karena kemungkinan berpeluang mengandung *Salmonella* juga.

## **B. SARAN**

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan sebagai perbandingan dalam penetapan prevalensi *Salmonella* pada selada segar maupun jenis sayuran lain dari beberapa pasar tradisional dengan pasar swalayan di daerah Bogor, serta pengujian *Salmonella* yang tidak berbasis pada uji biokimiawi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1995. Food Borne Pathogens. Monograph No. 1 *Salmonella*. Oxoid Manual.
- AOAC International. 1995. FDA Bacteriological Analytical Manual. 8<sup>th</sup> ed.
- Balai Penelitian Veteriner. 1985. Dasar-Dasar Cara Serotyping *Salmonella* spp. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Bogor.
- Buckle, K. A, R. A. Edwards, G. H. Fleet, dan M. Wootton. 1987. Ilmu Pangan. Diterjemahkan oleh Adiono, H. P. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Del-Portillo, F. G. 2000. Moleculer and Celluler Biology of *Salmonella* Pathogenesis. Di dalam Cary, J. W, J. E. Linz, dan D. Bhatnagar. 2000. Microbial Foodborne Disease : Mechanisms of Pathogenesis and Toxin Synthesis. Techonomic Publishing Company, Inc. Cancaster, Pennsylvania, USA.
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan RI. 1989. Keputusan Ditjen POM RI No. 03725/B/SK/VII/1990 tanggal 10 Juli 1989 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Makanan. Depkes RI, Jakarta.
- Haryanto, E., T. Suhartini, E. Rahayu, dan H. Sunarjono. 2003. Sawi dan Selada. Edisi Revisi. Penebar Swadaya, Jakarta.
- ICMSF. 1986. Microorganism in Foods 2. Sampling for Microbiological Analysis Principles and Specific Applications, 2<sup>nd</sup> ed. University of Toronto Press, Toronto, Ontario, Canada.
- Isyanti, M. 2001. Mutu Mikrobiologi Sayuran Lalap dari Pasar Tradisional di Daerah Bogor dan Pengaruh Perlakuan Pasca Panen Minimal untuk Menjamin Keamanannya. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Jay, J. M. 2000. Modern Food Microbiology. 6<sup>th</sup> ed. Litton Educational Publishing, Inc, New York.
- Jenie, B. S. L., dan S. Fardiaz. 1989. Uji Sanitasi dalam Industri Pangan. PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kauffmann, F. 1944. Zur Serologie der Coli-Gruppe. Di dalam Jay, J. M. 2000. Modern Food Microbiology. 6<sup>th</sup> ed. Litton Educational Publishing, Inc, New York.

- Lin, C. M., S. S. Moon, M. P. Doyle, dan K. H. McWatters. 2002. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritica* serotype Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide with mild heat. *J. Food. Prot.* Vol. 65 (8):1215-1220.
- Lukasik, J., M. L. Bradley, T. M. Scott, W. Hsu, S. R. Farrah, dan M. L. Tamplin. 2001. Elution, detection, and qualification of polio I, bacteriophages, *Salmonella* Montevideo, and *Escherichia coli* O157:H7 from seeded strawberries and tomatoes. *J. Food. Prot.* Vol. 64 (3):292-297.
- Lund, B. M., Baird-Parker T. C, dan Gould G. W. 2000. The Microbiological Safety and Quality of Food. Vol II. Aspen Publisher, Inc. Gathersburg, Maryland.
- Marriot, N. G. 1999. Principle of Food Sanitation. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Mitchell, R. 1993. Environmental Microbiology. A Jhon Willey & Sons, Inc., Publication, New York.
- Nguyen-the, C dan F. Carlin. 2000. Fresh and Processed Vegetables. Di dalam Lund, B. M., Baird-Parker T. C, dan Gould G. W. 2000. The Microbiological Safety and Quality of Food. Vol II. Aspen Publisher, Inc. Gathersburg, Maryland.
- Oxoid Manual. 1995. 7<sup>th</sup> ed. Foodborne Pathogens. Monograph No. 1 *Salmonella*.
- Popoff, M. Y., dan L. L. Minor. 1997. Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovars. Institut Pasteur, Paris.
- Public Health Laboratory Service. 2000. Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. *Communicable Dis. Public Health* 3:163-167.
- Ray, B. 2001. Fundamental Food Microbiology. 2<sup>nd</sup> ed. CRC Press. Boca Raton. London, New York, Washington D. C.
- Ruslan. 2003. Keamanan Mikrobiologi dan Survei Lapang Sayuran Olahan di Daerah Bogor Barat. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sagoo, S. K., C. L. Little, L. Ward, I. A. Gillespie, dan R. T. Mitchell. 2003. Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of salmonellosis. *J. Food. Prot.* Vol. 66 (3):403-409.
- Supardi, I. dan Sukamto. 1999. Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan. Penerbit Alumni, Bandung.

Susilawati, A. 2002. Keamanan Mikrobiologi dan Survei Lapangan Sayuran di Tingkat Petani dan Pasar Tradisional di Daerah Bogor. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Venkitanarayanan, K. S., C. M. Lin, H. Bailey dan M. P. Doyle. 2001. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* on apples, oranges, and tomatoes by lactic acid with hydrogen peroxide. J. Food. Prot. Vol. 65 (1):100-105.

[www.cdc.gov/ncidod/eid/vol10no1/02-0781.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol10no1/02-0781.htm), 24 Juli 2004.

[www.dhss.state.mo.us/GLRequest/ID/salmonella3-html-5k-](http://www.dhss.state.mo.us/GLRequest/ID/salmonella3-html-5k-), 2 April 2004.

[www.jlndquist.net/general\\_micro/dfmultinf.html](http://www.jlndquist.net/general_micro/dfmultinf.html), 2 April 2004.

[www.safefood.net.au/content.cfm?sid=468](http://www.safefood.net.au/content.cfm?sid=468), 9 April 2004.

Lampiran 1. Komposisi tiap strip dan reaksi yang terjadi pada API 20E

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/cup)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTS	
				NEGATIVE	POSITIVE
ONPG	2-nitrophenyl- $\beta$ D-galactopyranosidase	0.223	$\beta$ -galactosidase (OrthoNitroPhenyl- $\beta$ D-Galactopyranosidase)	colorless	yellow
<u>ADH</u>	L-arginine	1.9	Arginine DiHydrolase	yellow	red/ orange
<u>LDC</u>	L-lysine	1.9	Lysine DeCarboxylase	yellow	red/ orange
<u>ODC</u>	L-ornithine	1.9	Ornithine DeCarboxylase	yellow	red/ orange
CIT	trisodium citrate	0.756	CITrate utilization	pale green/ yellow	blue-green/ blue
H <sub>2</sub> S	sodium thiosulfate	0.075	H <sub>2</sub> S production	colorless/ greyish	black deposit/ thin line
URE	urea	0.76	UREase	yellow	Red/ orange
TDA	L-tryptophane	0.38	Tryptophane DeAminase	yellow	reddish brown
IND	L-tryptophane	0.19	INDole production	colorless pale green/ yellow	pink
VP	sodium pyruvate	1.9	acetoin production (Voges Proskauer)	colorless	pink/ red
GEL	Gelatin (bovine origin)	0.6	GELatinase	no diffusion	diffusion of black pigment
GLU	D-glucose	1.9	fermentation/oxidation (GLUcose) (4)	blue/ blue-green	yellow/ greyish yellow
MAN	D-mannitol	1.9	fermentation/oxidation (MANnitol) (4)	blue/ blue-green	yellow
INO	inositol	1.9	fermentation/oxidation (INOsitol) (4)	blue/ blue-green	yellow
SOR	D-sorbitol	1.9	fermentation/oxidation (SORbitol) (4)	blue/ blue-green	yellow
RHA	L-rhamnose	1.9	fermentation/oxidation (RHAmnose) (4)	blue/ blue-green	yellow
SAC	D-sucrose	1.9	fermentation/oxidation (SACcharose (4)	blue/ blue-green	yellow
MEL	D-melibiose	1.9	fermentation/oxidation (MELibiose) (4)	blue/ blue-green	yellow
AMY	amygdalin	0.57	fermentation/oxidation (AMYgdalin) (4)	blue/ blue-green	yellow
ARA	L-arabinose	1.9	fermentation/oxidation (ARAbinose) (4)	blue/ blue-green	yellow

## Lampiran 2. Contoh blanko pengujian dengan API 20E

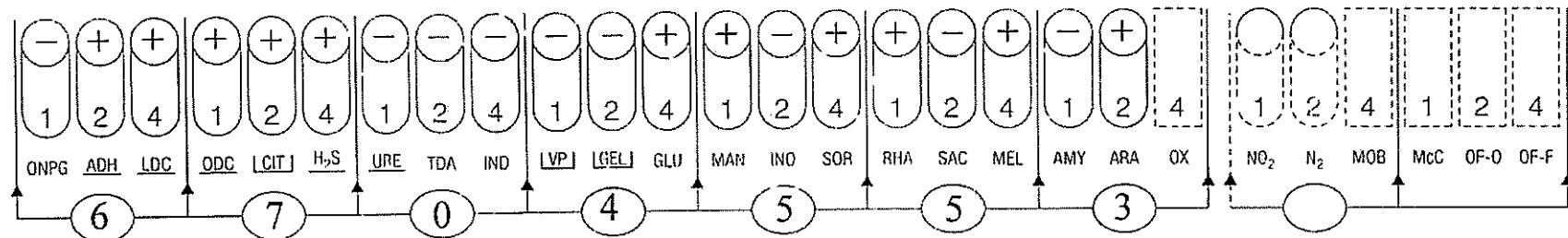
## Ps. Jambu Dua

CE

07223 8

REF : TSIA/HEA/S-2

Origine / Source / Herkunft /  
Origen / Origen / Προέλευση /  
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :



Imprimé en France / Printed in France

Autres tests / Other tests / Andere Tests /  
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /  
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /  
Andre tests / Inne testy :

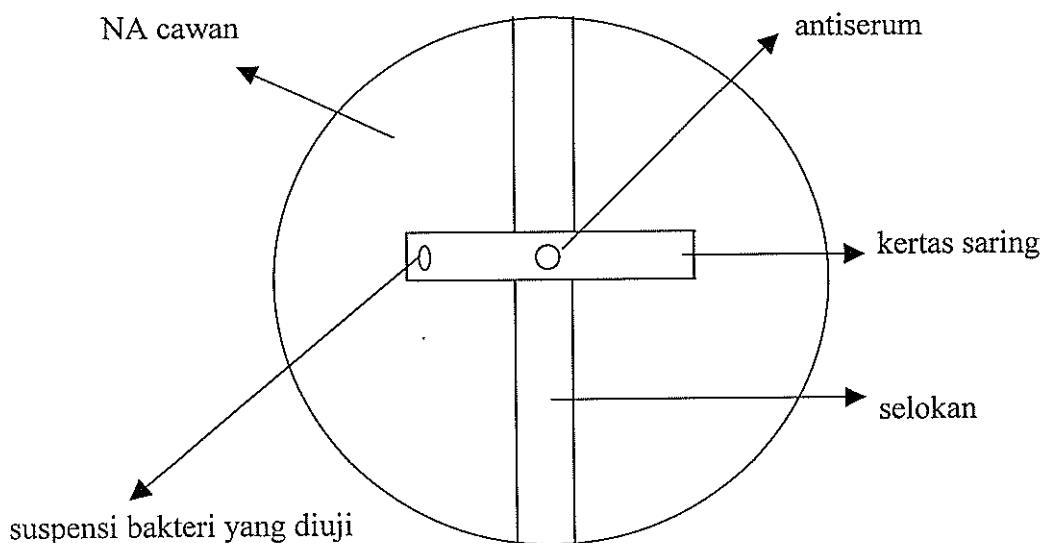
% id 89.4  
Confirm by serological test

Ident. / Ταυτοποίηση :  
Excellent identification to the genus  
*Salmonella* sp.

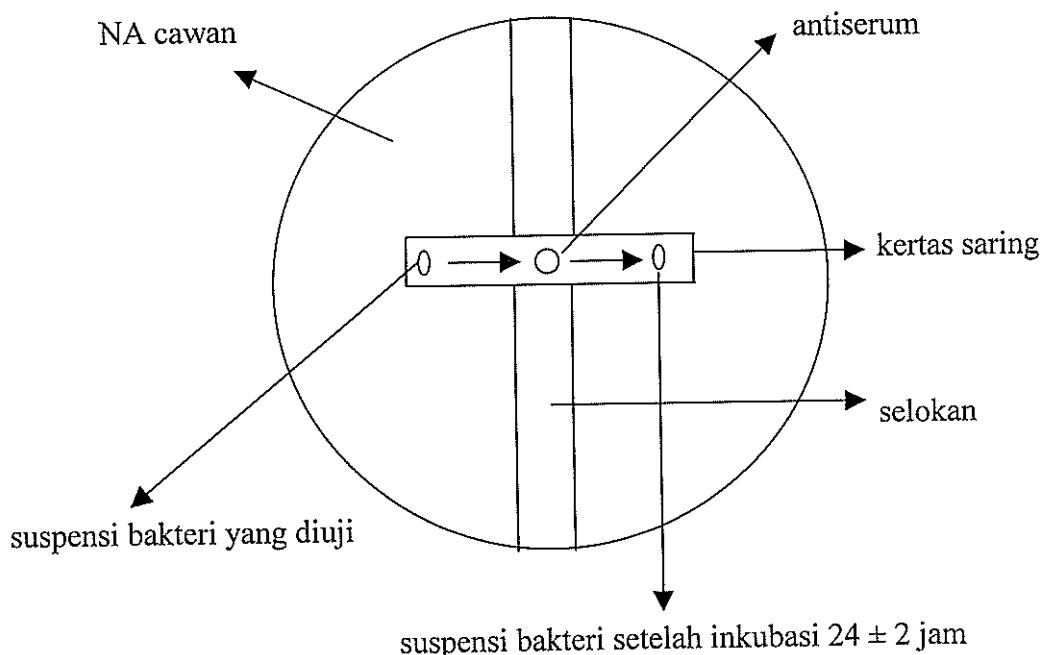
Lampiran 3. Hasil serotype *Salmonella* berdasarkan skema Kauffmann-White

<u>Serotype</u>	<u>Somatik (O)</u>	<u>Fase I</u>	<u>Fase II</u>
Fallowfield	3, 10	l, z <sub>13</sub> , z <sub>28</sub>	e, n, z <sub>15</sub>
Hoghton	3, 10	l, z <sub>13</sub> , z <sub>28</sub>	z <sub>6</sub>
Joal	3, 10	l, z <sub>28</sub>	1, 7
Lamin	3, 10	l, z <sub>28</sub>	e, n, x
Ughelli	3, 10	r	1, 5
Elisabethville	3, 10 [15]	r	1, 7
Simi	3, 10	r	e, n, z <sub>15</sub>
<b>Weltevreden</b>	<b>3, 10 [15]</b>	<b>r</b>	<b>z<sub>6</sub></b>
Segefeld	3, 10	r, i	1, 2
Dumfries	3, 10	r, i	1, 6
Amager	3, 10 [15]	y	1, 2
Orion	3, 10 [15] [15, 34]	y	1, 5
Mokola	3, 10	y	1, 7
Ohlstedt	3, 10 [15]	y	e, n, x
Bolton	3, 10	y	e, n, z <sub>15</sub>
Langensalza	3, 10	y	l, w
Stockholm	3, 10 [15]	y	z <sub>6</sub>
Fufu	3, 10	z	1, 5
Harleystreet	3, 10	z	1, 6
Huddinge	3, 10	z	1, 7
Clerkenwell	3, 10	z	l, w
Landwasser	3, 10	z	z <sub>6</sub>
Adabraka	3, 10	z <sub>4</sub> , z <sub>23</sub>	[1, 7]
Wagadugu	3, 10	z <sub>4</sub> , z <sub>23</sub>	z <sub>6</sub>
Florian	3, 10 [15]	z <sub>4</sub> , z <sub>24</sub>	-
Okerara	3, 10	z <sub>10</sub>	1, 2

Lampiran 4. Penentuan fase II uji serologi *Salmonella* (Balai Penelitian Veteriner, 1985)



Hasil positif : Pada Jameson plate, setelah diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama  $24 \pm 2$  jam akan terjadi pertumbuhan pada kertas saring yang tidak diberi suspensi bakteri (bakteri menyeberangi selokan).



Lampiran 5. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Bogor

Sumber	Ulangan	Pengenceran					SPC (CFU/g)	Nilai Log	Nilai Log rata-rata
		$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$			
Pedagang I	1	TBUD/TBUD	90/89	9/19	0/3	0/0	$9.4 \times 10^5$	5.97	5.90
	2	TBUD/TBUD	50/35	10/25	12/20	0/5	$6.9 \times 10^5$	5.83	
Pedagang II	1	TBUD/TBUD	77/84	26/11	1/2	1/0	$9.1 \times 10^5$	5.96	6.04
	2	TBUD/TBUD	130/100	20/16	13/10	0/1	$1.3 \times 10^6$	6.11	
Pedagang III	1	TBUD/TBUD	174/207	60/57	6/2	1/0	$2.3 \times 10^6$	6.36	6.08
	2	TBUD/TBUD	60/51	10/12	5/2	1/0	$6.3 \times 10^5$	5.80	
Pedagang IV	1	TBUD/TBUD	145/152	15/22	7/6	5/0	$1.6 \times 10^6$	6.20	5.92
	2	TBUD/TBUD	40/32	7/9	5/1	1/1	$4.3 \times 10^5$	5.63	
Pedagang V	1	TBUD/TBUD	58/75	12/22	2/6	0/0	$7.9 \times 10^5$	5.90	5.66
	2	TBUD/TBUD	16/23	5/8	2/4	1/0	$2.6 \times 10^5$	5.41	

Lampiran 6. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Anyar

Sumber	Ulangan	Pengenceran					SPC (CFU/g)	Nilai Log	Nilai Log rata-rata
		$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$			
Pedagang I	1	TBUD/TBUD	78/91	8/6	1/1	0/1	$8.3 \times 10^3$	5.92	5.87
	2	TBUD/TBUD	97/23	15/6	1/4	1/0	$6.6 \times 10^3$	5.82	
Pedagang II	1	TBUD/TBUD	42/34	12/10	1/0	0/0	$4.5 \times 10^3$	5.65	5.87
	2	TBUD/TBUD	100/130	10/10	9/10	0/5	$1.2 \times 10^6$	6.08	
Pedagang III	1	TBUD/TBUD	175/158	34/27	16/10	5/1	$1.9 \times 10^6$	6.28	6.09
	2	TBUD/TBUD	109/32	30/6	1/0	0/0	$8.0 \times 10^3$	5.90	
Pedagang IV	1	TBUD/TBUD	156/125	31/54	5/2	2/0	$1.7 \times 10^6$	6.23	6.12
	2	TBUD/TBUD	100/100	10/10	0/2	0/0	$1.0 \times 10^6$	6.00	
Pedagang V	1	TBUD/TBUD	75/86	4/4	1/1	0/1	$2.6 \times 10^3$	6.34	6.21
	2	TBUD/TBUD	102/94	18/43	2/15	1/0	$1.2 \times 10^6$	6.08	

Lampiran 7. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Gunung Batu

Sumber	Ulangan	Pengenceran					SPC (CFU/g)	Nilai Log	Nilai Log rata-rata
		$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$			
Pedagang I	1	TBUD/TBUD	140/166	42/30	3/3	2/0	$1.7 \times 10^6$	6.23	6.16
	2	TBUD/TBUD	102/94	43/18	10/5	0/1	$1.2 \times 10^6$	6.08	
Pedagang II	1	TBUD/TBUD	120/132	72/43	10/5	0/5	$1.7 \times 10^6$	6.23	6.26
	2	TBUD/TBUD	143/116	73/79	12/5	5/0	$1.9 \times 10^6$	6.28	
Pedagang III	1	TBUD/TBUD	151/104	60/54	23/18	6/4	$1.9 \times 10^6$	6.28	6.03
	2	TBUD/TBUD	61/43	12/11	1/1	2/1	$6.0 \times 10^5$	5.78	
Pedagang IV	1	TBUD/TBUD	129/106	26/9	1/0	0/1	$1.2 \times 10^6$	6.08	6.19
	2	TBUD/TBUD	169/189	32/41	5/1	1/0	$2.0 \times 10^6$	6.30	
Pedagang V	1	TBUD/TBUD	231/162	36/21	0/7	0/5	$2.0 \times 10^6$	6.30	6.21
	2	TBUD/TBUD	126/129	13/16	5/0	0/3	$1.3 \times 10^6$	6.11	

Lampiran 8. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Merdeka

Sumber	Ulangan	Pengenceran					SPC (CFU/g)	Nilai Log	Nilai Log rata-rata
		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$			
Pedagang I	1	TBUD/TBUD	153/160	34/23	10/5	1/0	$1.7 \times 10^7$	7.23	7.06
	2	TBUD/TBUD	57/81	9/19	5/1	0/2	$7.7 \times 10^6$	6.89	
Pedagang II	1	TBUD/TBUD	98/102	49/29	6/16	0/3	$1.4 \times 10^7$	7.15	7.12
	2	TBUD/TBUD	85/109	24/15	10/12	1/3	$1.2 \times 10^7$	7.08	
Pedagang III	1	TBUD/TBUD	82/63	10/13	4/1	0/2	$7.8 \times 10^6$	6.89	7.11
	2	TBUD/TBUD	164/142	72/85	4/10	0/1	$2.1 \times 10^7$	7.32	
Pedagang IV	1	TBUD/TBUD	104/99	30/19	9/3	0/0	$1.2 \times 10^7$	7.08	7.08
	2	TBUD/TBUD	121/71	20/17	31/5	1/1	$1.2 \times 10^7$	7.08	
Pedagang V	1	TBUD/TBUD	46/64	8/8	2/1	1/0	$5.8 \times 10^6$	6.76	7.07
	2	TBUD/TBUD	156/148	85/94	35/14	2/1	$2.4 \times 10^7$	7.38	

Lampiran 9. Hasil perhitungan jumlah total mikroba pada selada di Pasar Jambu Dua

Sumber	Ulangan	Pengenceran					SPC (CFU/g)	Nilai Log	Nilai Log rata-rata
		$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$			
Pedagang I	1	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	110/53	11/12	0/2	$8.5 \times 10^6$	6.93	6.87
	2	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	52/71	12/6	0/3	$6.4 \times 10^6$	6.81	
Pedagang II	1	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	88/133	21/25	1/0	$1.2 \times 10^7$	7.08	7.04
	2	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	87/120	15/2	1/0	$1.0 \times 10^7$	7.00	
Pedagang III	1	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	151/162	23/14	0/1	$1.6 \times 10^7$	7.20	6.98
	2	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	61/54	4/8	0/0	$5.8 \times 10^6$	6.76	
Pedagang IV	1	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	70/158	11/7	2/1	$1.1 \times 10^7$	7.04	6.98
	2	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	71/82	18/8	0/2	$8.1 \times 10^6$	6.91	
Pedagang V	1	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	133/56	6/1	1/1	$8.9 \times 10^6$	6.95	6.95
	2	TBUD/TBUD	TBUD/TBUD	102/71	9/15	3/0	$9.0 \times 10^6$	6.95	

Lampiran 10. Hasil pengamatan *Salmonella* pada selada di Pasar Bogor

Media	Sumber											
	Pedagang I			Pedagang II			Pedagang III			Pedagang IV		
	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
LB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SCB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HEA 1	<i>atypical</i>	<i>typical</i>										
HEA 2	<i>atypical</i>	<i>typical</i>	<i>atypical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>	<i>atypical</i>	<i>typical</i>	<i>atypical</i>	<i>typical</i>	<i>atypical</i>	<i>typical</i>
XLD A 1	<i>atypical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>	<i>atypical</i>	<i>typical</i>	<i>atypical</i>	<i>typical</i>
XLD A 2	<i>atypical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>	<i>typical</i>								
BSA 1	<i>typical</i>	<i>typical</i>										
BSA 2	<i>typical</i>	<i>typical</i>										
HEA 1 TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HEA 1 LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HEA 2 TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HEA 2 LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLD A 1 TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLD A 1 LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLD A 2 TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLD A 2 LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 1 TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 1 LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 2 TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 2 LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 11. Hasil pengamatan *Salmonella* pada selada di Pasar Anyar

Media	Sumber											
	Pedagang I			Pedagang II			Pedagang III			Pedagang IV		
	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
LB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SCB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HEA	1	atypical	atypical	typical	typical	atypical	typical	atypical	typical	atypical	atypical	typical
	2	atypical	atypical	typical	typical	atypical	typical	atypical	typical	atypical	atypical	typical
XLDA	1	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
	2	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
BSA	1	atypical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
	2	atypical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
HEA 1	TSIA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HEA 2	TSIA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLDA 1	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLDA 2	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 1	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 2	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 12. Hasil pengamatan *Salmonella* pada selada di Pasar Gunung Batu

Media	Sumber									
	Pedagang I Ulangan		Pedagang II Ulangan		Pedagang III Ulangan		Pedagang IV Ulangan		Pedagang V Ulangan	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
LB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SCB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HEA	1	atypical	typical	atypical	typical	atypical	typical	atypical	typical	atypical
	2	atypical	typical	atypical	typical	atypical	typical	atypical	typical	atypical
XLDA	1	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
	2	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
BSA	1	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
	2	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HEA 1	LIA	-	+	-	+	-	-	+	-	-
	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HEA 2	LIA	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLDA 1	LIA	-	+	-	+	-	-	+	-	-
	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLDA 2	LIA	-	+	-	+	-	-	+	-	-
	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 1	LIA	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 2	LIA	-	+	-	+	-	-	+	-	-

Lampiran 13. Hasil pengamatan *Salmonella* pada selada di Pasar Merdeka

Media	Sumber											
	Pedagang I			Pedagang II			Pedagang III			Pedagang IV		
	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
LB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SCB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HEA	1	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical
	2	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical
XLD A	1	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
	2	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
BSA	1	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
	2	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HEA 1	LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HEA 2	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLD A 1	LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLDA 2	LIA	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 1	LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSA 2	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 14. Hasil pengamatan *Salmonella* pada selada di Pasar Jambu Dua

Media	Sumber											
	Pedagang I			Pedagang II			Pedagang III			Pedagang IV		
	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan	Ulangan		Ulangan
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
LB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SCB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HEA	1	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical
	2	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical	atypical
XLDA	1	typical	atypical	typical	atypical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	atypical
	2	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	atypical
BSA	1	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
	2	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical	typical
HEA 1	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
	LIA	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
HEA 2	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
	LIA	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
XLDA 1	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
XLDA 2	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
BSA 1	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
BSA 2	TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	LIA	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-