



DETEKSI GEN VIRULENSI *Salmonella* spp. *INDIGENOUS* JEMBER

SKRIPSI

Oleh:

**Irma Suryaningsih
NIM. 150210103096**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



DETEKSI GEN VIRULENSI *Salmonella* spp. *INDIGENOUS* JEMBER

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh:

Irma Suryaningsih
NIM. 150210103096

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019

PERSEMBAHAN

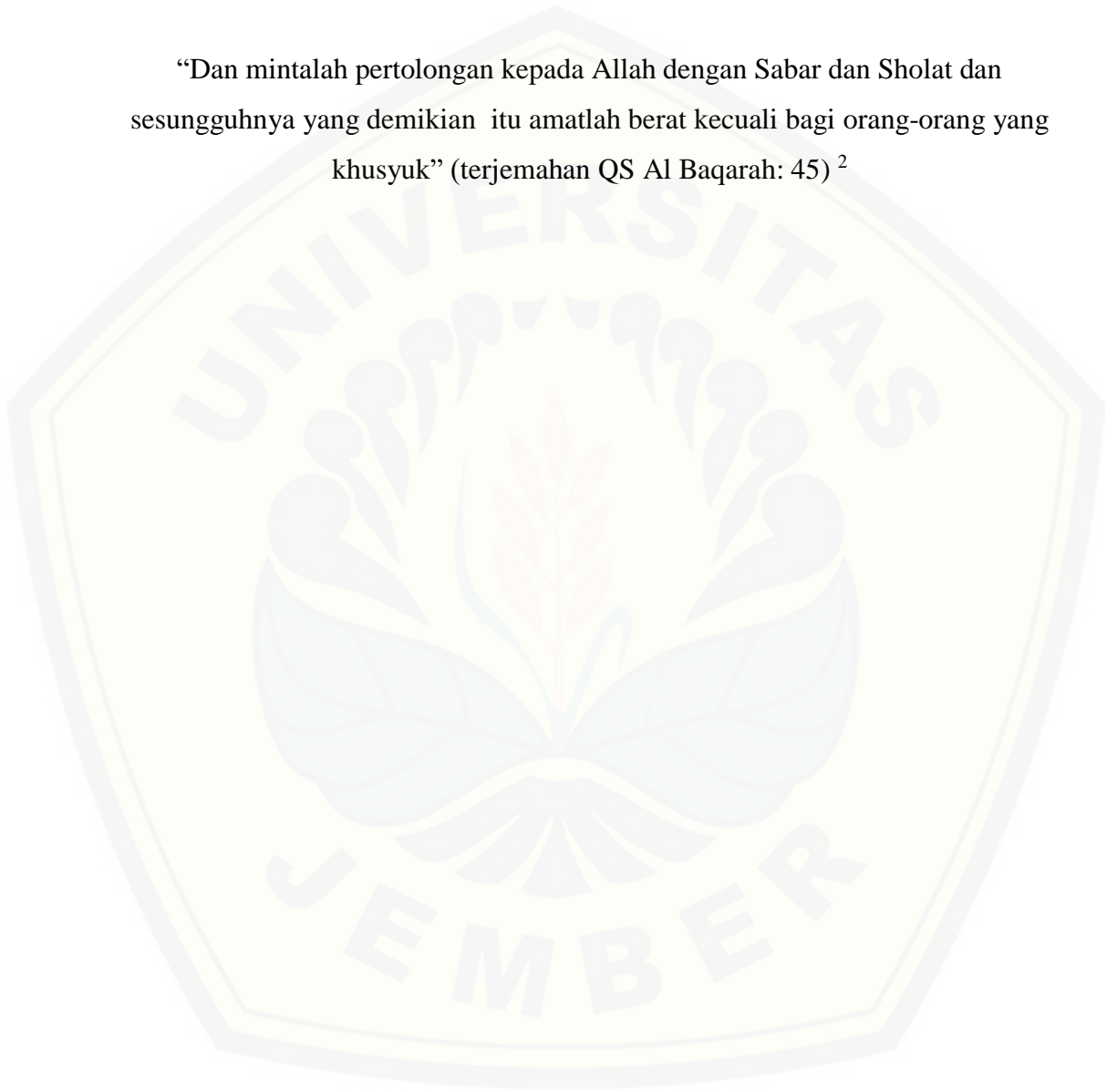
Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang, saya persembahkan skripsi ini kepada :

1. Allah *Azza Wa Jalla*, sebagai ucapan syukur atas nikmat dan karunia-Nya dalam terselesaikannya skripsi ini, semoga apa yang saya lakukan di skripsi ini berguna bagi seluruh umat manusia.
2. Ibuku Imarotin dan Bapakku Suryanto yang senantiasa membimbingku dan mengiringi setiap langkahku dengan doa dan kasih sayang yang sangat tulus dan ikhlas. Semoga tetes keringat, dan darahmu menjadi pahala untukmu Ibu dan Bapak.
3. Almamater tercinta yang ku banggakan Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

MOTTO

“Janganlah engkau bersedih, sesungguhnya Allah bersama kita” (terjemahan QS. At Taubah: 40) ¹

“Dan mintalah pertolongan kepada Allah dengan Sabar dan Sholat dan sesungguhnya yang demikian itu amatlah berat kecuali bagi orang-orang yang khusyuk” (terjemahan QS Al Baqarah: 45) ²



¹ Ustaz Iyus Kurnia, dkk. 2016. Al-Qur'an Cordoba amazing: 33 Tuntunan Al-Qur'an untuk Hidup Anda. Bandung : Cordoba Internasional Indonesia.

² Ibid.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Irma Suryaningsih

NIM : 150210103096

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Deteksi Gen Virulensi *Salmonella* Spp. *Indigenus* Jember” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap dan etika ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Mei 2019

Yang menyatakan,

Irma Suryaningsih
NIM 150210103096

SKRIPSI

Deteksi Gen Virulensi *Salmonella* Spp. *Indigenus* Jember

Oleh:

Irma Suryaningsih
NIM 150210103096

Pembimbing Utama : Erlia Narulita, S.Pd., M.Si., Ph.D
NIP : 19800705 200604 2 004

Pembimbing Anggota : Mochammad Iqbal, S.Pd.,M.Pd.
NIP : 19880120 201212 1 001

PERSETUJUAN

DETEKSI GEN VIRULENSI *Salmonella* spp. *INDIGENOUS* JEMBER

SKRIPSI

digunakan guna menyelesaikan tugas akhir dan memnuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar sarjana (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh :

Nama : Irma Suryaningsih
NIM : 150210103096
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan : 2015
Daerah Asal : Lumajang
Tempat Tanggal Lahir : Lumajang, 29 November
1996

Disetujui,

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Erlia Narulita, S.Pd., M.Si., Ph.D.
NIP. 19800705 200604 2 004

Mochammad Iqbal, S.Pd.,M.Pd.
NIP. 19880120 201212 1 001

PENGESAHAN

Skripsi ini berjudul “Deteksi Gen Virulensi *Salmonella* Spp. *Indigenus* Jember
“ telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan pada :

Hari, Tanggal :

Tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Tim Penguji,

Ketua

Sekretaris

Erlia Narulita, S.Pd., M.Si., Ph.D.
NIP. 19800705 200604 2 004

Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd.
NIP. 19880120 201212 1 001

Anggota I

Anggota II

Prof. Dr. Suratno, M.Si
NIP. 19670625 199203 1 003

Dr. Slamet Hariyadi, M.Si
NIP. 19680101 199203 1 007

Mengesahkan,
Dekan FKIP Universitas Jember

Prof. Drs. Dafik, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19680802 199303 1 004

RINGKASAN

Deteksi Gen Virulensi *Salmonella* Spp. *Indigenus* Jember; Irma Suryaningsih; 150210103096; xviii halaman + 37 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA; Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Salmonellosis atau diare *hyperendemic* merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella*. *Salmonella* adalah salah satu anggota keluarga Enterobacteriaceae, memiliki keberadaan yang tersebar luas di lingkungan dan bersifat patogen pada makanan. Kasus *Salmonellosis* pernah terjadi di kabupaten Jember khususnya di Kecamatan Kencong pada tahun 2016 yang tercatat mengalami kejadian keracunan makanan dengan jumlah kasus 225. Meskipun statusnya telah menurun tapi kontaminasi bakteri pada makanan di wilayah Kencong masih terdeteksi kembali pada bulan Maret 2017 dari hasil sampling yang dilakukan oleh Dinas Kesehatan Jember (Diah, 2016). Kota Jember khususnya di Kecamatan Puger merupakan daerah penghasil komoditas ikan yang memungkinkan keberadaan bakteri *Salmonella*. *Salmonella* bisa bersifat dorman sehingga perlu penelitian lanjutan untuk mengetahui masih adakah cemaran *Salmonella* setelah kasus keracunan makanan terlewati. Bakteri di isolasi dari kedua kecamatan tersebut dan telah dilakukan uji biokimia untuk memastikan bakteri tersebut adalah *Salmonella*. Terkait dengan penyebab *salmonellosis* adalah peran virulensi *Salmonella* terhadap sel inang. Uji molekuler digunakan untuk mendeteksi gen virulensi yang dimiliki oleh bakteri *Salmonella*.

Metode penelitian menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) atau mengamplifikasi sekuen DNA berdasarkan 3 macam gen virulensi pada *Salmonella*, yaitu *stn*, *fimA* dan *spvR*. Dua sampel diperoleh dari penelitian sebelumnya, yaitu bakteri P21D (Zahra, 2018) dan bakteri KP2 (Fiqih, 2018). Bakteri tersebut sudah dipastikan bakteri *Salmonella* berdasarkan uji biokimianya. Oleh karena itu perlu dilakukan uji molekuler untuk mengetahui patogenitas bakteri tersebut berdasarkan keberadaan gen virulensi *stn*, *fimA* dan *spvR*.

Gen virulensi masing-masing memiliki peran dalam patogenesis. Semua gen terdapat di dalam kromosom *Salmonella* yang disebut *Salmonella Pathogenesis Island* (SPI). Kedua sampel bakteri dari Kencong (KP2) dan Puger (P21D) dapat terdeteksi keberadaan gen virulensinya. Tetapi sampel 2 yaitu KP2 tidak terdeteksi keberadaan gen *fimA*. Gen virulensi memiliki peran yang penting dalam interaksi bakteri dengan sel inang, baik manusia maupun hewan. Gen virulensi mengkodekan protein yang mengekspresikan sifat patogenitas bakteri. Gen *stn* (*salmonella* enterotoxin) mengkodekan produksi enterotoxin dalam sel bakteri. Gen *fimA* (*fimbriaeA*) merupakan gen pengkode fimbria pada *Salmonella*, fimbria berada di permukaan bakteri. Sedangkan gen *spvR* (*salmonella* plasmid virulence) adalah gen pengkode tingkat infeksi pada plasmid *Salmonella*.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat, taufik, dan hidayah Nya, sehingga dapat terselesaikannya skripsi ini yang berjudul ” Deteksi Gen Virulensi *Salmonella* Spp. *Indigenous* Jember”. Skripsi ini digunakan untuk melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Skripsi ini terselesaikan tidak lepas dari bantuan seluruh pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Prof. Drs. Dafik, M.Sc., Ph.D. selaku Dekan FKIP Universitas Jember;
2. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes. selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA, FKIP Universitas Jember;
3. Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P. selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi;
4. Ibu Erlia Narulita, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Bapak Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd. selaku Dosen Pembimbing Anggota dan Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa meluangkan waktu, dan perhatiannya selama proses pembimbingan hingga terselesaikannya skripsi ini;
5. Prof. Dr. Suratno, M.Si selaku Dosen Penguji Utama dan Dr. Slamet Hariyadi, M., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan saran guna perbaikan skripsi ini;
6. Seluruh Bapak/Ibu Dosen Pendidikan Biologi yang telah membimbing dan membagikan ilmunya selama ini;
7. Prof. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr., Sc dan Tim Teknisi dan Administrasi *Center for Development of Advance Science Technology* (CDAST) Universitas Jember yang telah memberikan izin untuk penelitian ini;

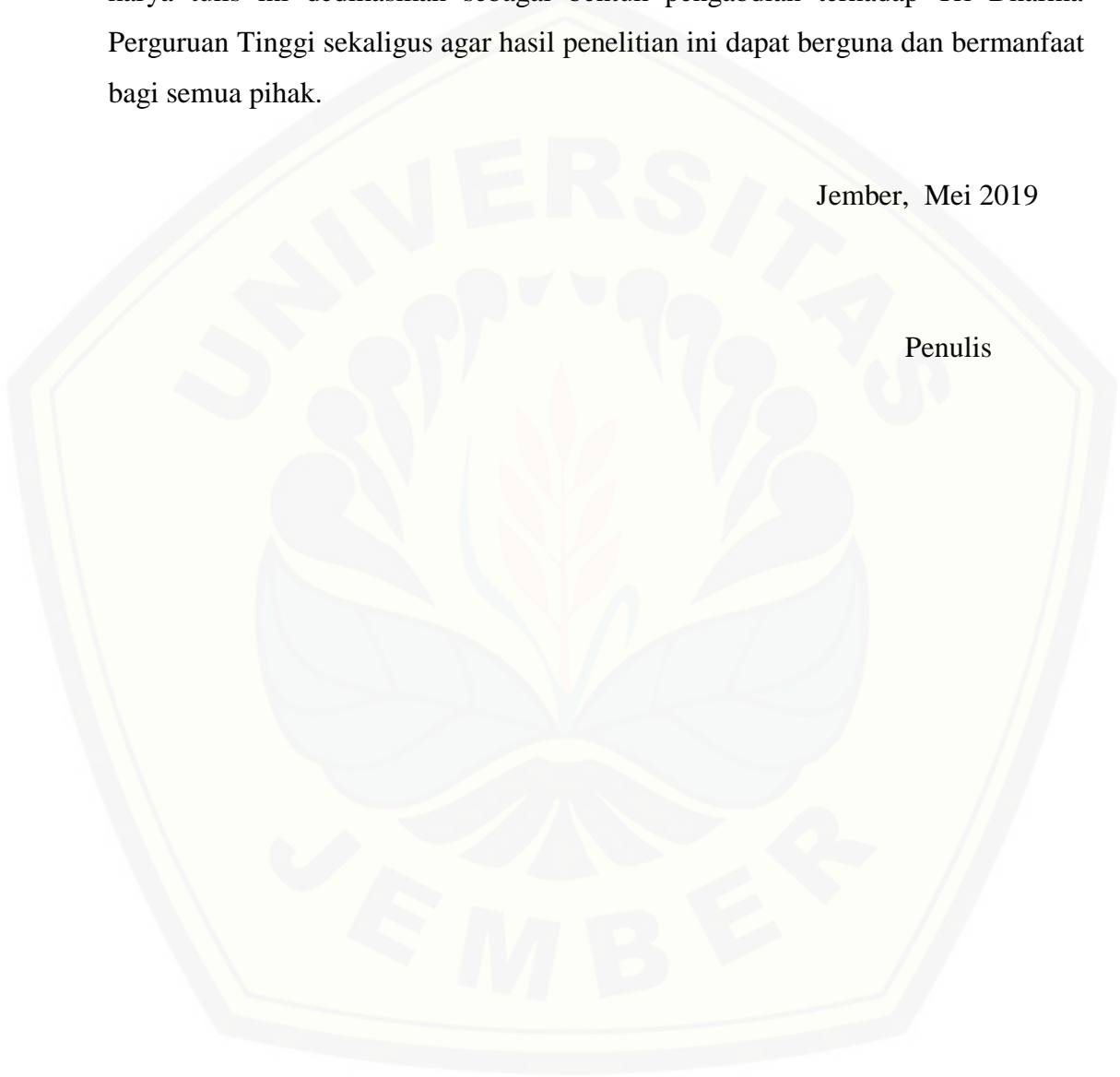
8. Bapak Hardian Susilo Addy, S.P., M.P., Ph.D selaku Ketua Divisi Biomolekuler dan Bioteknologi CDAST Universitas Jember yang telah membantu dalam terselesaikannya penelitian ini;
9. Ibu Ir. Endang Soesetyaningsih selaku Teknisi PLP Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember yang telah banyak membantu dalam terselesaikannya penelitian ini;
10. Kedua orangtuaku yang selalu mengiringi langkahku dengan doa dan kasih sayangnya;
11. Adekku Fira Dwi Suryani dan Bunda Yami yang senantiasa memberikan semangat, motivasi, dan doa yang tiada henti;
12. Keluarga besarku yang senantiasa mendoakan dan memberi semangat;
13. A. Andrianto Djunaidi yang selalu mendoakan dan memberikan semangat dan motivasi hingga terselesaikannya tugas akhir ini;
14. Tim “Pejuang Autoclaf” : Anggi, Inneke, Diana, Ria dan Desy terimakasih telah berjuang bersama-sama di laboratorium, semoga segala urusan kalian dipermudah oleh Allah swt,
15. Sahabat-sahabatku Inneke, Anggi, Dwi Astiti, Selly. Duki, Naufal, Anam, Pur, Nailul, Riko terimakasih atas doa, semangat, serta motivasi yang tiada habis-habisnya yang senantiasa mengiringi dari awal kuliah hingga terselesaikan skripsi ini. Semoga silaturahmi ini kan senantiasa terjaga selamanya;
16. Sahabatku “Centil”, Arina, Zainap dan Desy terimakasih support dan doanya, semoga silaturahmi kita selalu terjaga selamanya;
17. Tim “Brantas Squad” : Safira A.R, Gizelda R, dan Raissa P. yang terus memotivasi dan memberi semangat dalam penyelesaian skripsi ini;
18. *Phage Team Family*: Rasmiyana, Desi Rejeki, Fara, Indah Desy, yang telah membantu di laboratorium CDAST dan memberikan semangat dalam penyelesaian penelitian ini;
19. Teman-teman kelas C BIOEDU 15 terimakasih telah menemani selama masa kuliah;
20. Keluarga Besar BioEdu 2015 atas segala doa dan semangatnya;

21. Serta semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini.

Semoga segala jenis bantuan, ilmu, doa, semangat, wawasan dan motivasi mendapat balasan dari Allah SWT dan tercatat sebagai amal kebaikan. Akhir kata karya tulis ini dedikasikan sebagai bentuk pengabdian terhadap Tri Dharma Perguruan Tinggi sekaligus agar hasil penelitian ini dapat berguna dan bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, Mei 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PERSETUJUAN.....	vii
HALAMAN PENGESAHAN.....	viii
RINGKASAN	ix
PRAKATA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan.....	3
1.5 Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Bakteri <i>Salmonella</i>.....	4
2.1.1 Karakteristik Bakteri <i>Salmonella</i> spp.....	5
2.1.2 Klasifikasi <i>Salmonella</i> spp	5
2.2 Gen virulen pada <i>Salmonella</i> spp	7
2.3 Kerangka Berpikir.....	9
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	10
3.1 Jenis Penelitian.....	10
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	10

3.2.1 Tempat Penelitian.....	10
3.2.2 Waktu Penelitian	10
3.3 Identifikasi Variabel	10
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....	10
3.5 Definisi Operasional	11
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	11
3.6.1 Alat Penelitian.....	11
3.6.2 Bahan Penelitian.....	12
3.7 Prosedur Penelitian.....	12
3.7.1 Peremajaan isolat bakteri <i>Salmonella</i> spp.	12
3.7.2 Isolasi dan Ekstraksi Bakteri <i>Salmonella</i> spp.	12
3.7.3 Running DNA Genom.....	13
3.7.4 Amplifikasi DNA	13
3.8 Alur Penelitian	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Hasil penelitian.....	16
4.1 Pembahasan.....	18
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	23
5.1 Kesimpulan.....	23
5.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24

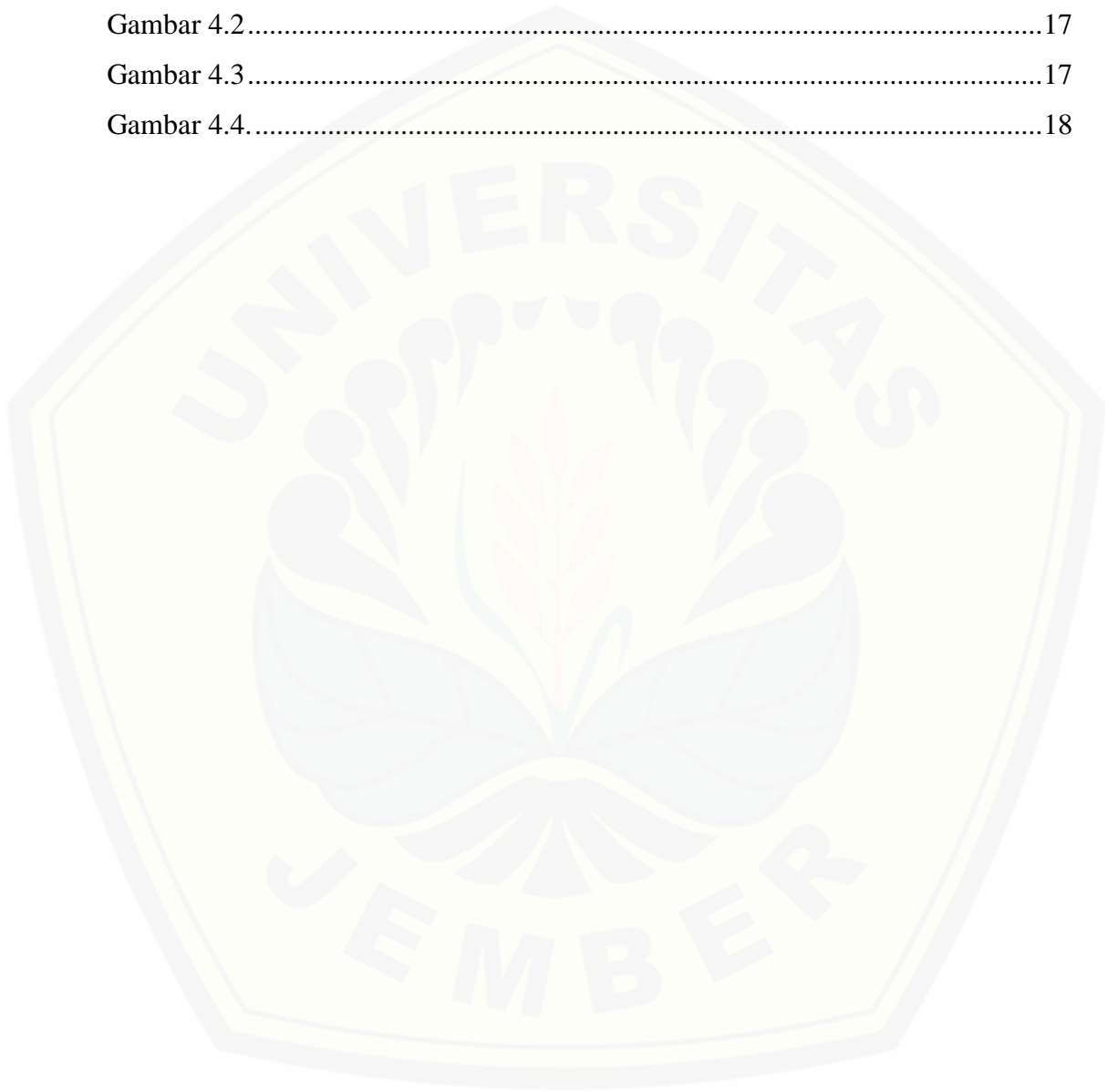
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1	14



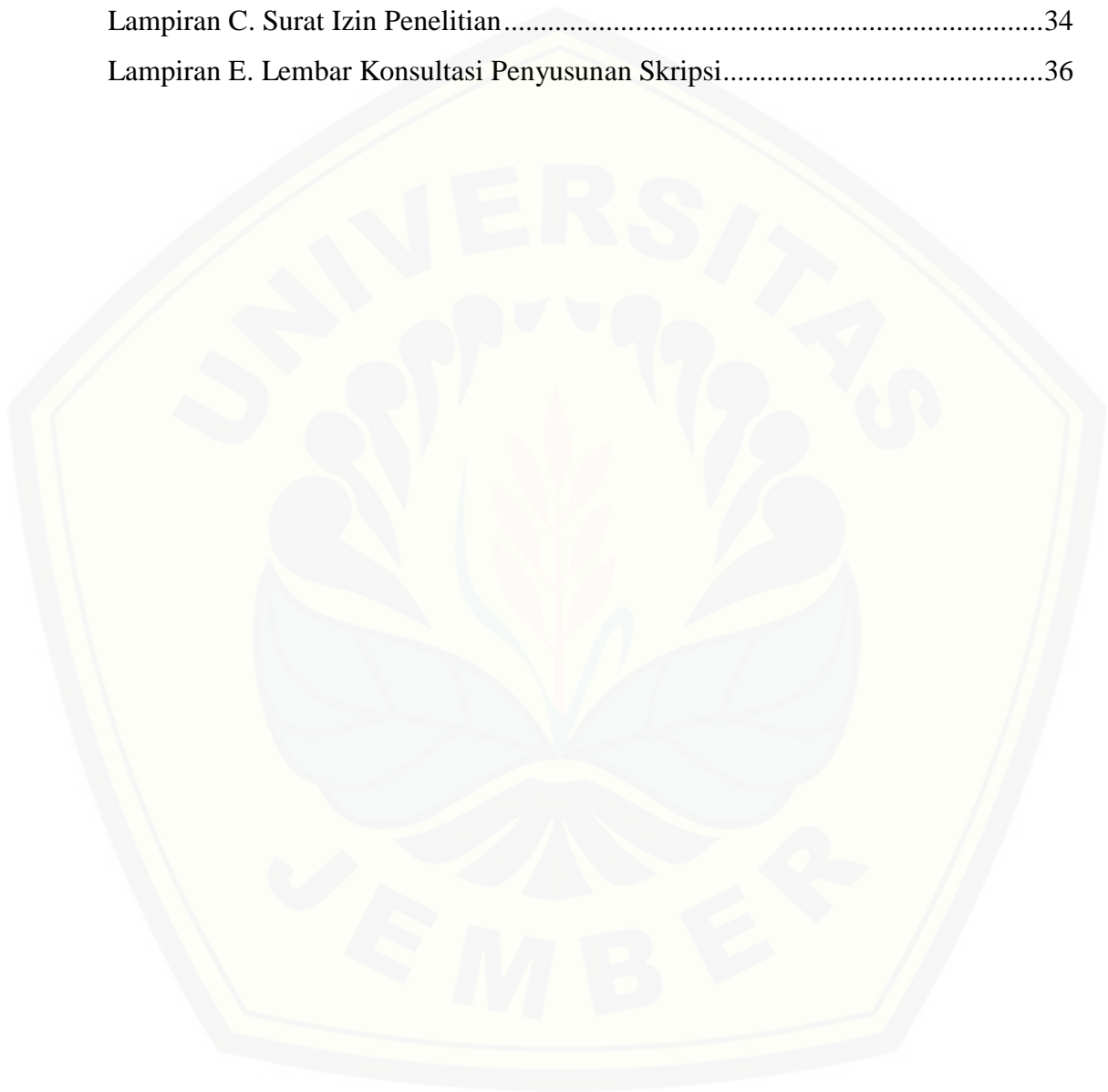
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1.....	6
Gambar 4.1.....	16
Gambar 4.2.....	17
Gambar 4.3.....	17
Gambar 4.4.....	18



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Matriks Penelitian.....	28
Lampiran B. Dokumentasi Penelitian	31
Lampiran C. Surat Izin Penelitian.....	34
Lampiran E. Lembar Konsultasi Penyusunan Skripsi.....	36



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Anggota keluarga Enterobacteriaceae memiliki keberadaan yang tersebar luas di lingkungan. Beberapa spesies bakteri dari keluarga Enterobacteriaceae bersifat sangat patogen. *Salmonella* spp, *Shigella* spp. dan *Escherichia coli* merupakan anggota dari keluarga Enterobacteriaceae yang bersifat patogen pada makanan. Makanan yang tercemar oleh keberadaan bakteri patogen dapat menyebabkan penyakit seperti diare. *Salmonella* spp. merupakan salah satu patogen terpenting yang berhubungan dengan makanan dan dikaitkan dengan penyakit diare *hyperendemic* disebut *salmonellosis* yang terjadi pada manusia maupun hewan (Das *et al.*, 2012).

Salmonella spp. dibawa oleh berbagai hewan domestik termasuk burung dan beberapa hewan liar. *Salmonella* spp. telah banyak diisolasi dari daging mentah, unggas dan produk unggas, susu dan produk susu dan dari lingkungan, selain itu wabah juga dikaitkan dengan memasak yang buruk, memanaskan kembali makanan, dan penanganan makanan yang tidak benar oleh pengolah makanan. Spesies *Salmonella* secara luas didistribusikan di alam (air waduk, air pantai yang terkontaminasi dengan manusia atau kotoran hewan) dan menyebabkan wabah di seluruh dunia, termasuk *salmonellosis* (Tosun *et al.*, 2016).

Salmonellosis disebabkan oleh virulensi *Salmonella* terkait dengan kombinasi faktor kromosom dan plasmid. Gen yang berbeda seperti *inv*, *spv*, *fimA* dan *stn* telah diidentifikasi sebagai gen virulensi utama yang bertanggung jawab untuk *salmonellosis*. *Salmonella Pathogenesis Islands* (SPIs) adalah gen besar dalam kromosom *Salmonella* yang bertanggung jawab untuk membangun interaksi tertentu dengan inang (*host*) yang diperlukan untuk virulensi bakteri pada hewan tertentu. Keberadaan gen virulensi pada *Salmonella* menunjukkan virulensi terhadap suatu penyakit yang terjadi pada inangnya (Sabbagh *et al.*, 2010).

Terkait dengan keberadaan gen virulensi pada *Salmonella*, penelitian ini menggunakan dua bakteri *Salmonella indigenus* Jember yang diperoleh dari Zahra (2018) yaitu bakteri *Salmonella* P21D, diisolasi dari ikan yang berasal dari Puger dan Ramadhan (2018) yaitu *Salmonella* KP2 berasal dari Kencong. Dua bakteri tersebut dipastikan sebagai *Salmonella* spp. karena telah melalui uji biokimia. Namun, diperlukan data molekuler virulensi dari *Salmonella* tersebut sebagai dasar pengendalian cemarannya.

Salmonella diisolasi dari daerah tersebut karena Kabupaten Jember, khususnya di Kecamatan Kencong pada tahun 2016 tercatat mengalami kejadian keracunan makanan dengan jumlah kasus 225. Meskipun statusnya telah menurun tapi kontaminasi bakteri pada makanan di wilayah Kencong masih terdeteksi kembali pada bulan Maret 2017 dari hasil sampling yang dilakukan oleh Dinas Kesehatan Jember (Diah, 2016). Faktor penyebab keracunan makanan adalah bakteri, fungi dan virus (Nizlah dan Asharina, 2016). Salah satu kontaminasi yang ditemukan dalam kasus ini adalah *Salmonella* spp. Sedangkan *Salmonella* dari Puger diisolasi dari sampel ikan yang merupakan hasil komoditas utama dari daerah Puger. *Salmonella* bisa bersifat dorman sehingga perlu penelitian lanjutan untuk mengetahui masih adakah cemaran *Salmonella* setelah kasus keracunan makanan terlewati.

Oleh karena itu, urgensi dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gen virulensi yang dimiliki oleh kedua sampel bakteri *Salmonella* spp. *indigenus* Jember. Gen virulensi pada *Salmonella* dapat terdeteksi dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan menggunakan beberapa pasangan primer gen bakteri *Salmonella*. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian yang berjudul “Deteksi Gen Virulensi *Salmonella* spp. *Indigenus* Jember”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan rumusan masalah sebagai berikut :

Apakah bakteri *Salmonella* spp. *indigenus* Jember mengandung gen virulensi *stn*, *fimA* dan *spvR* ?

1.3 Batasan Masalah

Untuk mempermudah pembahasan dan menghindari kerancuan dalam penelitian ini, maka dibuat batasan masalah sebagai berikut:

Bakteri yang digunakan ialah bakteri *Salmonella* spp. (KP2 dan P21D) *indigenus* Jember.

1.4 Tujuan

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka tujuan penelitian ini adalah :

Untuk mendeteksi gen virulensi *stn*, *fimA* dan *spvR* pada *Salmonella* spp. *indigenus* Jember

1.5 Manfaat

Berdasarkan penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan manfaat sebagai berikut:

1. Bagi peneliti, dapat memberikan pengetahuan mengenai gen virulensi yang dimiliki oleh *Salmonella* spp. *indigenus* Jember.
2. Bagi peneliti lain, untuk dapat dijadikan acuan untuk melakukan penelitian lanjutan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Salmonella*

Salmonella sp adalah bakteri patogen zoonotik yang sering terdapat pada produk olahan daging unggas, telur, dan daging ternak. *Salmonella* spp. adalah sekelompok bakteri yang berada di saluran usus manusia dan hewan berdarah panas dan mampu menyebabkan penyakit. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit menular yang disebut salmonellosis. Bakteri *Salmonella* umumnya menyerang usus manusia yang masuk ke tubuh manusia melalui makanan tercemar yang tidak diproses dan disajikan dengan baik. Infeksi *Salmonella* sp dapat menyebabkan gejala demam, nyeri dan rasa kram pada perut (Food Safety Authority Of Ireland, 2011). Patogen utama dari *Salmonella enterica* yang menginfeksi manusia dari berbagai produk makanan yang berbeda termasuk *Salmonella Enteritidis* dan *Salmonella Typhimurium* (Thung *et al.*, 2018).

Salmonella adalah salah satu yang paling umum penyebab infeksi bawaan makanan pada manusia, yang telah terjadi terkait dengan berbagai jenis makanan, termasuk daging sapi dan produk daging sapi. Daging sapi dan produk daging sapi dapat terkontaminasi *Salmonella* melalui paparan kotoran sapi, atau bersembunyi selama proses penyembelihan. Kontaminasi pada daging berasal dari transfer bakteri dari usus selama pengeluaran isi perut, dan dari kulit ke daging selama proses menguliti. Oleh karena itu, kehadiran *Salmonella* pada ternak di tingkat penyembelihan, dan bahkan lebih penting lagi dalam daging sapi yang tersedia di pasar signifikan terhadap risiko keamanan pangan (Wiezcorek dan Osek, 2013).

WHO (2014) menyatakan bahwa *Salmonella* adalah genus bakteri yang merupakan penyebab utama penyakit bawaan makanan di seluruh dunia. Sampai saat ini masih terbatasnya studi di laboratorium, dan kurangnya penyelidikan salmonellosis di negara berkembang membuat resiko penyakit akibat infeksi *Salmonella* sp ini semakin besar.

2.1.1 Karakteristik Bakteri *Salmonella* spp.

Genus *Salmonella* adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang yang dikelompokkan dalam famili Enterobacteriaceae. Ukuran bakteri umumnya memiliki panjang 2-5 mikron, lebar 0,5-1,5 mikron dan bergerak dengan flagel peritrik sehingga memiliki kemampuan motilitas sel. *Salmonella* mempunyai ukuran genom yang bervariasi antara 4460 hingga 4857 kb (Andino dan Hanning, 2015). *Salmonella* sp dapat tumbuh optimal pada suhu 35–37°C, dan pH 6.50–7.50. Karena karakteristiknya tersebut, mayoritas *Salmonella* dapat dibunuh menggunakan perlakuan berupa pasteurisasi atau blansing (pemanasan dengan suhu sekitar 80° – 100°C) (Prayoga dan Wardani, 2015).

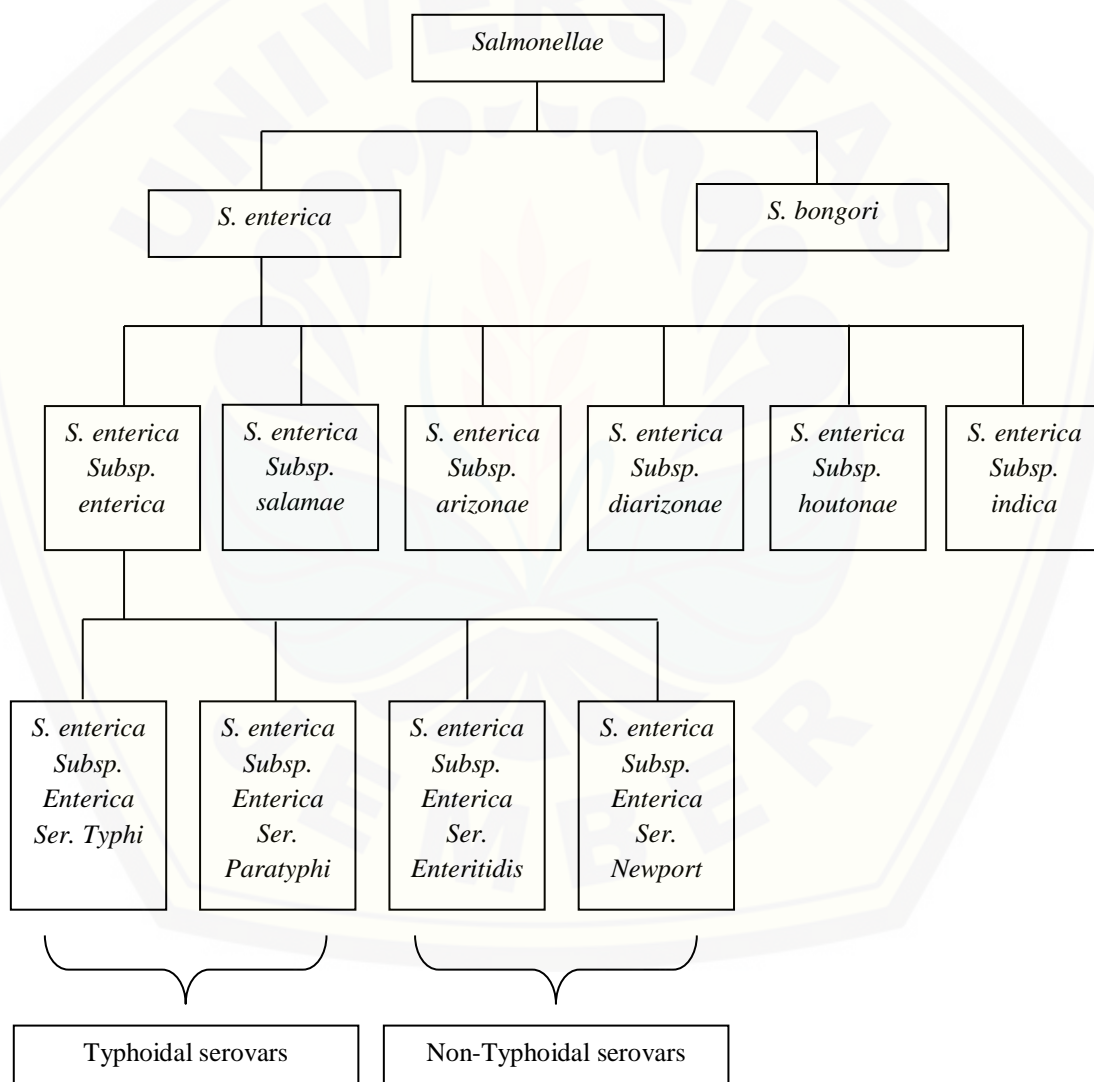
Salmonella dapat dikultur pada berbagai media padat. Biasanya pada media selektif dan media diferensial, salah satunya sangat selektif, yang diinokulasi dengan spesimen tinja. Hektoen dan Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar sangat selektif dan keduanya mendeteksi produksi hidrogen sulfida, serta memfasilitasi identifikasi spesies *Salmonella*. Agar yang lebih selektif, termasuk Salmonella-Shigella, Bismuth Sulfite, dan Brilliant Green Agar dapat menghambat beberapa strain *Salmonella* sp, dan sering digunakan dalam kombinasi dengan media yang kurang selektif. Media diferensial yang kurang selektif seperti Mac Conkey Agar atau Eosin Methylene Blue Agar (Dekker dan Frank, 2015).

Pertumbuhan bakteri *Salmonella* pada medium SSA memberikan hasil zona kuning di antara koloni hitam pada medium. Mikroba melakukan reduksi tiosulfat menjadi sulfat sehingga terlihat sebagai koloni hitam. Beberapa *Salmonella* sp. menghasilkan bulatan hitam (presipitat ferri sulfat) di tengah koloni sebagai hasil produksi gas H₂S. Hasil pengamatan pada media SSA ditemukan koloni berbentuk bulat, cembung, dan berwarna hitam ini diduga sebagai *Salmonella* sp. Hasil perwarnanan Gram menunjukkan bakteri berwarna merah muda dan berbentuk batang pendek. Hal ini menandakan bakteri tersebut bersifat gram negatif (Afriyani dkk, 2016).

2.1.2 Klasifikasi *Salmonella* spp.

Genus *Salmonella* terdiri dari 2 spesies *Salmonella bongori* dan *Salmonella enterica*. *Salmonella enterica* dibagi menjadi 6 subspecies: arizonae,

diarizonae, enterica, houtenae, indica, dan salamae. Setiap spesies dan subspecies dapat lebih jauh dibagi menjadi serovar berdasarkan kehadiran O (somatik) dan H antigen (flagellar) (Yoshida *et al.*, 2014). Di antara semua subspecies *Salmonella*, *Salmonella enterica* subsp enterica terutama ditemukan pada hewan menyusui dan menyumbang sekitar 99% infeksi *Salmonella* pada manusia dan hewan berdarah panas. Sebaliknya, lima subspecies *Salmonella* dan *Salmonella bongori* lainnya ditemukan terutama di lingkungan dan juga pada hewan berdarah dingin, dan karenanya jarang terjadi pada manusia. (Eng *et al.*, 2015).



Gambar 2.1 Klasifikasi *Salmonella* spp. berdasarkan filogeni (Sumber : Dekker dan Frank, 2015)

Selain klasifikasi subspecies berdasarkan filogeni, Kauffman dan White mengembangkan skema untuk lebih mengklasifikasikan *Salmonella* berdasarkan serotipe pada tiga antigenik utama yaitu somatik (O), kapsuler (K) dan flagelar (H). Antigen somatik O adalah komponen oligosakarida dari lipopolisakarida yang terletak di membran luar bakteri. Serotipe spesifik *Salmonella* dapat mengekspresikan lebih dari satu antigen O pada permukaannya. Antigen H ditemukan pada flagella bakteri dan terlibat dalam aktivasi respon imun inang (Eng *et al.*, 2015).

2.2 Gen virulensi pada *Salmonella* spp

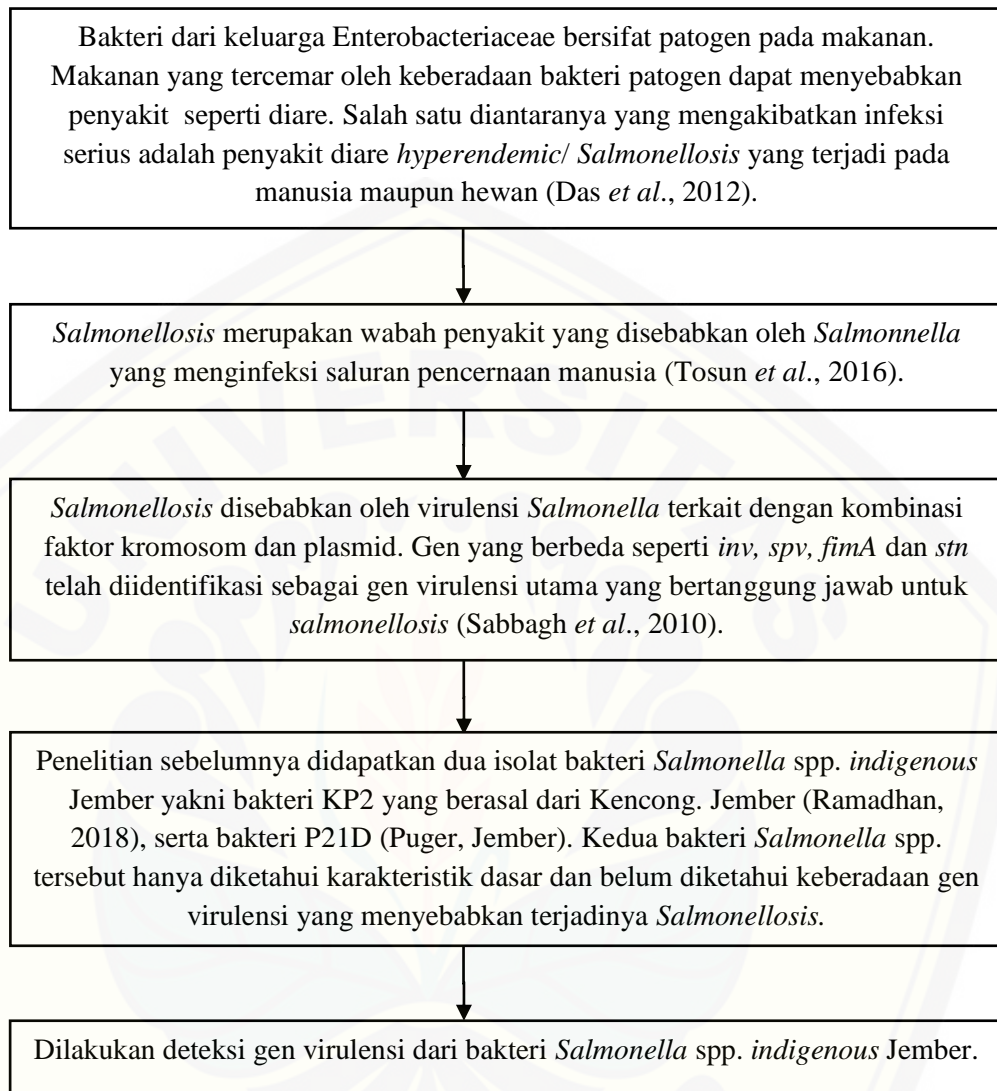
Virulensi *Salmonella* terkait dengan kombinasi faktor kromosom dan plasmid. Gen yang berbeda seperti *inv*, *spv*, *fimA* dan *stn* telah diidentifikasi sebagai gen virulensi utama untuk *Salmonellosis* (Chaudhary *et al.*, 2015). *S. enterica* mempunyai gen virulensi di dalam plasmidnya yang membantu organisme untuk mengekspresikan virulensinya di inang. Plasmid dari *Salmonella enterica* bervariasi dalam ukuran dari 2 hingga lebih dari 200 kb (Shekhar dan Singh, 2013). Di antara gen virulensi tersebut adalah *inv*, *sef* dan *pef* adalah gen untuk adhesi dan invasi dari patogen dalam sistem sel inang. Gen *spv* untuk keadaan penyakit sistemik di sel inang. Sementara *stn* adalah kode gen virulensi untuk produksi enterotoksin, gen *sop* dan *pip* untuk mengekspresikan proses patogen pada inang (Das *et al.*, 2012).

Faktor virulensi bakteri diperlukan untuk melekat, menyerang dan bereplikasi di dalam sel tuan rumah. Ini dikodekan oleh gen-gen yang hadir pada berbagai elemen genetik, termasuk kromosom bakteri, plasmid, dan *Salmonella Pathogenicity Islands* (SPIs) (Figueiredo *et al.*, 2015). SPI dianggap lompatan kuantum dalam evolusi *Salmonella* yang memainkan peran mendasar dalam patogenesis dan spesifisitas inang. Sedangkan SPI tertentu (seperti SPI-1 dan SPI-2) telah dipelajari secara mendalam, SPI lainnya telah diidentifikasi baru-baru ini dan lebih sedikit yang diketahui tentang distribusi mereka di serovar *Salmonella* dan perannya dalam penyakit (Suez *et al.*, 2013).

Gen seperti *invA*, *orgA*, *prgH*, *sipB* dan *spaN* di SPI-1 mengekspresikan sistem sekresi tipe 3 1 (T3SS-1) yang memungkinkan *Salmonella* menginvasi sel fagositik dan non-fagositik. Gen seperti *spiA* di SPI-2 mengekspresikan sistem sekresi tipe 3 2 (T3SS-2), yang memungkinkan kelangsungan hidup dan replikasi *Salmonella* di sel inang. Gen kromosom lain seperti *lpfA* dan *pefA* mengekspresikan protein yang terkait fimbriae yang penting untuk pergerakan. Selain itu, gen plasmidal seperti *spvB* berkontribusi pada kolonisasi jaringan yang lebih dalam. Potensi virulensi *Salmonella* menentukan perbedaan patogenesis di antara serotipe *Salmonella* (Suez *et al.*, 2013).

Dua puluh persen genome *Salmonella* terdiri dari DNA asal bakteriofag yang mengkodekan berbagai faktor virulensi. Plasmid sering ditemukan pada serotipe *Salmonella* yang terkait dengan plasmid virulensi *Salmonella*. Selain risiko yang disajikan oleh serotipe NTS sebagai potensi bahaya bawaan makanan, telah terjadi kemunculan cepat pada beberapa tahun terakhir isolat *Salmonella* yang resisten terhadap berbagai obat. *Mikroarray* DNA yang tinggi telah dikembangkan yang memungkinkan deteksi gen virulensi dalam jumlah besar, memungkinkan banyak isolat untuk dipelajari secara bersamaan (Figueiredo *et al.*, 2015).

2.3 Kerangka Berpikir



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Labortorium *Center for Development of Science and Tecnology* (CDAST) dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai April 2019.

3.3 Identifikasi Variabel

Variabel	Indikator Variabel
Bakteri <i>Salmonella</i> spp.	Bakteri <i>Salmonella</i> yang digunakan adalah KP2 dan P21D. Isolasi dan ekstraksi menggunakan bakteri yang berumur 24 jam.
Gen virulensi	Gen virulensi yang dideteksi pada penelitian ini adalah <i>fimA</i> , <i>spvR</i> dan <i>stn</i> .

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini melanjutkan dari penelitian sebelumnya. Sampel bakteri *Salmonella indigenus* Jember didapatkan dari Kencong oleh Ramadhan (2018) yaitu KP2 dan Zahra (2018) memperoleh sampel yang diisolasi dari ikan di daerah Puger yaitu P21D.

3.5 Definisi Operasional

- a. Deteksi merupakan cara untuk mengetahui atau menyelidiki ada tidaknya suatu komponen atau yang lainnya dari objek tertentu. Dalam penelitian di deteksi keberadaan gen virulensi pada bakteri *Salmonella* spp. *indigenus* Jember.
- b. Gen virulensi merupakan gen yang menyandakan kemampuan potegenitas pada makhluk hidup utamanya ditemukan pada kelompok mikroorganisme (bakteri, kapang, dan virus). Gen virulensi yang dideteksi pada *Salmonella* spp. di penelitian ini adalah *fimA*, *spvR* dan *stn*.
- c. Bakteri *Salmonella* spp merupakan bakteri dari famili Enterobacteracea yang tergolong gram negatif, dan fakultatif aerob. Bakteri *Salmonella* spp. yang digunakan merupakan bakteri *indigenus* Jember yang digunakan berasal dari penelitian sebelumnya KP2 dan P21D.
- d. *Indigenus* merupakan suatu kelompok yang berasal dari lokasi tertentu dalam hal ini adalah kelompok bakteri *Salmonella* spp. yang diisolasi dari Jember; KP2 (Kencong) dan P21D (Puger).

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; *autoclave*, *Laminar Air flow* (LAF), mikropipet, tiga macam tip yakni tip biru (1000 μ L), tip kuning (200 μ L), tip putih (10 μ L), bunsen, kaca objek, kaca benda, ose, neraca ohaus, neraca analitik, *hot plate*, *wrap plastic*, aluminium foil, inkubator 37°C, kulkas, *ice maker*, *box ice*, pendingin -20°C, *microultra sentrifuge*, eppendorf, *tray eppendorf*, tabung reaksi, cawan petri, rak tabung reaksi, *beaker glass*, elektroforesis, set alat pencetak gel elektroforesis, flash disk, *gel visual documentations*, tub PCR dan alat PCR (Thermal Cycler Bio-Rad).

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *Salmonella Shigella Agar* (SSA), Luria Bertani Broth (LB), agarose, spirtus, Alkohol 70%, aquades steril, bakteri *Salmonella* spp. (P21D dan KP2), *1 Kb DNA ladder*, *Loading Dye*, buffer TAE (*Tris Acetid Acid EDTA*), PCR Mastermix, sepasang primer, template DNA, free nuklease water. Bahan untuk running elektroforesis terdiri dari gel agarosa, buffer TAE, EtBr dan 1kb DNA Ladder, 50bp DNA Ladder.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Peremajaan isolat bakteri *Salmonella* spp.

Dua isolat bakteri *Salmonella* (KP2 dan P21D) diperoleh dari penelitian sebelumnya. Peremajaan dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri dari medium SSA ke medium *Luria Bertani* (LB). Bakteri dikultur selama 24 jam dengan di shaker.

3.7.2 Isolasi dan Ekstraksi Bakteri *Salmonella* spp.

Isolasi dan ekstraksi DNA menggunakan metode PCR Colony mengikuti Dashti (2009) dengan modifikasi. Bakteri yang telah ditumbuhkan pada medium LB selama 24 jam kemudian diambil sebanyak 1000 μ l dan disentrifuge pada 4°C, 10000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifuge mendapatkan pelet yang merupakan bakteri *Salmonella*. Pengambilan 1000 μ l dilakukan sebanyak 2 kali untuk mendapatkan lebih banyak sel bakteri. Kemudian supernatan di buang dan pelet dilakukan pencucian dari sisa medium dengan menggunakan ddH₂O steril disentrifuge menggunakan suhu, kecepatan dan waktu yang sama. Membuang supernatan dan menambahkan TE buffer sebanyak 50-100 μ l kemudian dididihkan pada *dry heater block* suhu 100° C selama 5 menit. Metode pendidihan (*boiling method*) merupakan salah satu metode untuk mengisolasi/ mengekstraksi DNA dari sel mikroba. DNA yang berasal dari bakteri gram negatif seperti *Salmonella* dapat dengan mudah diisolasi/diekstraksi dengan menggunakan metode pendidihan/ mendidihkan sel bakteri di dalam air (Nur'utami, 2011). Supernatan yang didapatkan mengandung DNA dipindahkan ke tabung eppendof lain dan disimpan pada suhu 4° C.

3.7.3 *Running* DNA Genom

Untuk pengecekan keberadaan DNA genom dilakukan dengan elektroforesis. 0,5 gr agarosa dan buffer TAE 50ml dimasak mendidih dan ditambahkan 1µl EtBr kemudian di tuang di cetakan dengan sisiran yang sudah di pasang pada cetakan. Supernatan sebanyak 5 µl ditambah 1 µl *loading dye* sebagai pemberat DNA diresuspensi dan di masukkan ke dalam sumuran gel. DNA marker yang digunakan berukuran 1kb sebagai patokan ukuran genom DNA bakteri. Proses elektroforesis pada 75 volt selama 35 menit dan hasilnya divisualisasikan menggunakan UV transluminator.

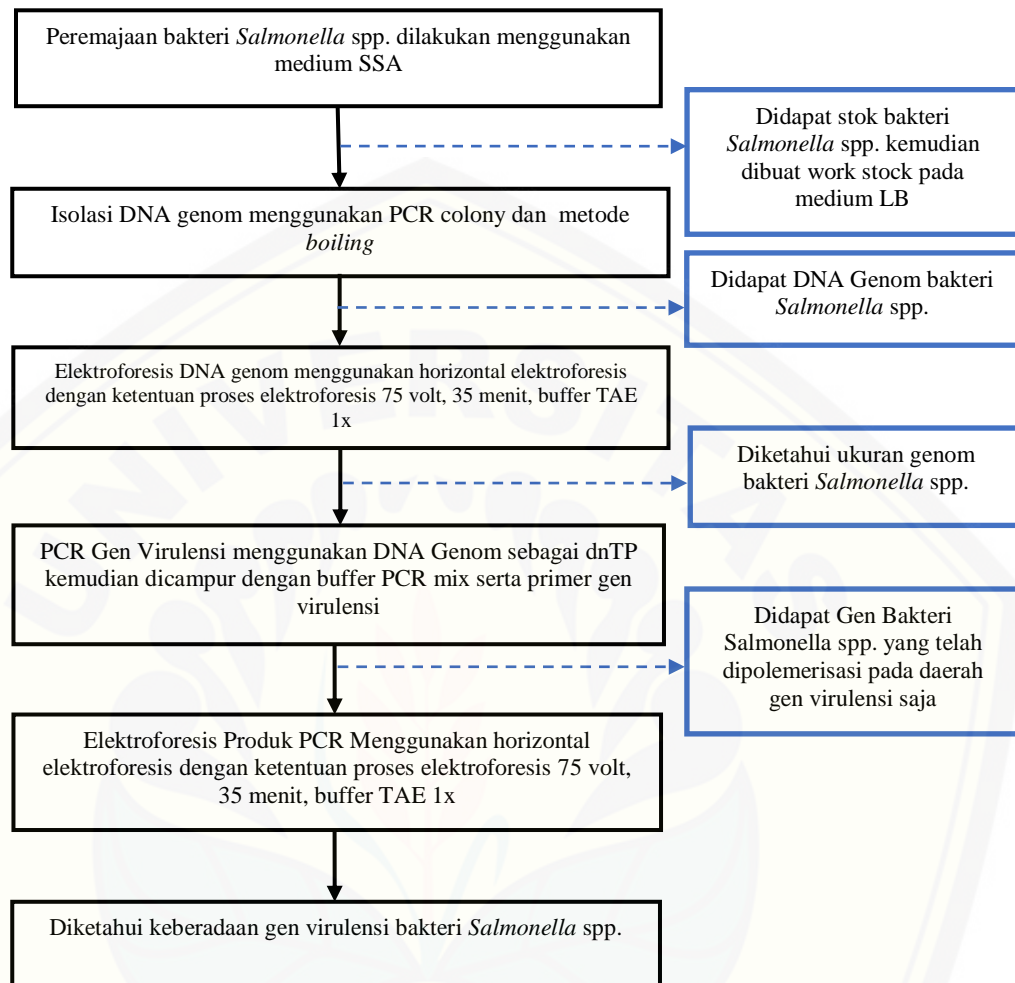
3.7.4 Amplifikasi DNA

Proses amplifikasi PCR pertama dilakukan dengan gradien suhu untuk memperoleh suhu optimasi pada setiap pasang primer. Penentuan suhu gradien berdasarkan suhu *melting* tiap primer atau 5°C di bawah suhu *melting*. Amplifikasi PCR dilakukan dengan volume 50µl mengandung DNA template (5µl), × 2 PCR Mastermix (Promega Corp., USA) (25µl), 10 pmol /µl dari setiap primer (5µl) dan 10 µl air yang tidak mengandung nuklease. Kondisi reaksi PCR ialah denaturasi pada 95°C selama 2 menit, diikuti oleh 35 siklus, denaturasi 95 °C selama 30 detik, suhu *annealing* 46,9°-50,8° C selama 30 detik, dan *extension* 72 °C selama 45 detik dan *final extention* 7 menit pada 72 °C (Sunar, *et al.*, 2014). Produk amplifikasi dipisahkan oleh elektroforesis pada agarosa 1% gel diwarnai dengan 5µg / ml etidium bromida dengan marker DNA 1kb sebagai penanda berat molekul.

Tabel 3.1 Pasangan Primer digunakan Untuk Karakterisasi Virulensi Isolat *Salmonella* (Chaudhary, *et al.*, 2015).

Target pasangan primer	Sekuen primer (5'-3')	Panjang (bp)
<i>fimA</i>	F : CCT TTC TCC ATC GTC CTG AA R : TGG TGT TAT CTG CCT GAC CA	85
<i>Stn</i>	F : CTT TGG TCG TAA AAT AAG GCG R : TGC CCA AAG CAG AGA GAT TC	260
<i>spvR</i>	F : CAG GTT CCT TCA GTA TCG CA R : TTT GGC CGG AAA TGG TCA GT	310

3.8 Alur Penelitian



Keterangan :



: tahap selanjutnya



: hasil perlakuan

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

Bakteri *Salmonella* spp. *indigenus* Jember, yaitu bakteri P21D terdeteksi mengandung gen virulensi *stn*, *fimA* dan *spvR* sedangkan bakteri KP2 terdeteksi mengandung dua gen virulensi, *stn* dan *spvR*.

5.2 Saran

Adapun saran dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Perlu diadakan penelitian lanjutan untuk mengetahui filogenetik *Salmonella* spp. *indigenus* Jember berdasarkan gen virulen yang terdeteksi.
- b. Perlu diadakan penelitian lanjutan untuk mendeteksi gen-gen virulen lainnya pada bakteri *Salmonella* spp. *indigenus* Jember.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriyani, Darmawi, Fakhurrazi, Z. H. Manaf, M. Abrar, dan Winaruddin. 2016. Isolasi Bakteri *Salmonella* Sp. Pada Feses Anak Ayam Broilerdi Pasar Ulee Kareng Banda Aceh. *Jurnal Medika Veterinaria*, 10 (1), 74:76.
- Alphons, J.A.M.V. and Jaap E.V.D. 2005. Distribution Of “Classic” Virulence Factors Among *Salmonella* spp. *FEMS. Immunol. Med. Microbiol.* 44: 251-259.
- Andino, A., I, Hanning. 2015. *Salmonella Enterica*: Survival, Colonization, And Virulence Differences Among Serovars. *The Scientific World Journal*, 1-16.
- Borges, K.A., T.Q Furian., A. Borsoi., dan H.L.S Moraes. 2013. Detection Of Virulence-Associated Genes In *Salmonella Enteritidis* Isolates From Chicken In South Of Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 33(12):1416-1422.
- Chaudhary, J. H., J. B. Nayak, M. N. Brahmhatt, dan P. P. Makwana. 2015. Virulence Genes Detection Of *Salmonella* Serovars Isolated From Pork And Slaughterhouse Environment In Ahmedabad, Gujarat. *Veterinary World.* 8(1) : 121-124.
- Das, A., S. S. Hari, U. Shalini, A. Ganeshkumar, dan M. Karthikeyan. 2012. Molecular Screening Of Virulence Genes From *Salmonella enterica* Isolated From Commercial Food Stuffs. *Biosciences Biotechnology Research Asia.* 9(1) : 363-369.
- Dashti, A., M.M Jadaon., A.M Abdulsamad., dan Dhasti. 2009. Heat Treatment of Bacteris : A Simple Method of DNA Extraction for Molecular Techniques. *Kuwait Medical Journal.*41 (2): 117-122.
- Dekker, J. P., K. M. Frank. 2015. Salmonella, Shigella, And Yersinia. *Clin Lab Med.* 35 : 225-246.
- Diah. 2016. Kejadian luar biasa (KLB)-keracunan di Jember, Jawa Timur. <http://penanggulangankrisiskemenke.go.id/kejadian-luar-biasa-klb-keracunan-di-jember-jawa-timur-04-09-2016>. [diakses 28 November 2018].
- Eng, S. K., P. Pusparajah, N. S Ab Mutalib, H. L. Ser, K. Chan, dan L. Lee. 2015. Salmonella: A Review On Pathogenesis, Epidemiology And Antibiotic Resistance, *Frontiers In Life Science.*
- Fabrizi, S., R. Leon., V. Blanc., D. Herrera and M. Sanz. 2013. Variability Of The Fima Gene In Porphyromonas Gingivalis Isolated From Periodontitis And Non-Periodontitis Patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.*18 (1): e100-5.

- Fekry, E., E. Abdeen., A.M. Ammar., dan A.E Hussien. 2018. Molecular Detection of *InvA*, *OmpA* and *Stn* Genes in *Salmonella* Serovars from Broilers in Egypt. *Alexandria Journal of Veterinary Science*. 56 (1): 69-74.
- Figueiredo, Ru., R. Card, C. Nunes, M. AbuOun, M.C Bagnall, J. Nunez, et al. 2015. Virulence Charaterization Of *Salmonella* Enterica By A Microarray : Detection And Evaluation Of The Cytoletha Distending Toxin Gene Activity In The Unusual Host *S. Typhimurium*. *Plos ONE*. 10(8).
- Food Safety Authority Of Ireland (2011) *Salmonella* Species. Update For 2011.
- Garibyan, L., N. Avashia. 2013. Research Techniques Made Simple : Polymerase Chain Reaction (PCR). *Journal Invest Dermatol*. 133 (3): 1-8.
- Jawad, A.A.K., A.H.A Hamadani. 2011. Detection of *fimA* and *fimC* genes of *Salmonella* isolates by using Polymerase Chain Reaction. *Journal of Basrah Researches ((Sciences))*. 37 (4): 27-36.
- Joshi, M ., Desphande. 2010. Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles and Application. *International Journal of Biomedical Research*. 1 (5): 81-97.
- Lee, P.Y., J. Costumbrado, dan C.Y Hsu, Y.H Kim. 2012. Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *Journal of Visualized Experiments*. 62 : 1-5.
- Murtiyaningsih, H. 2017. Isolasi DNA Genom Dan Identifikasi Kekerabatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD (*Random Amplified Polimorfic DNA*). *Jurnal Agritop*. 15 (1): 83-93.
- Murugkar, H.V., Rahman, H., dan Dutta, P.K. 2003. Distribution Of Virulence Genes In *Salmonella* Serovars Isolated From Man & Animals. *Ind. J. Med. Res*. 117:66-70.
- Muthu, G., P.Gopinath, dan S. Srivani. 2014. Detection Of Virulence Genes From *Salmonella* Species In Chennai, India. *Centre for Info Bio Technology (CIBTech) Journal*. 3 (1): 11-14.
- Naraveni, R., K. Jamil. 2005. Rapid Detection Of Food-Borne Pathogens By Using Molecular Techniques. *Journal of Medical Microbiology*. 54: 51–54.
- Niyomdecha, N., S. Samosornsuk., N.Thanawan., W. Samosornsuk. 2015. Evaluation of PCR Assay to Detect *Stn* Gene of *Salmonella* in Chicken meat and Lettuce Samples. *Journal Of Medical Technology And Physical Therapy*. 27 (2) : 133-139.

- Nur'utami, D. A. 2011. Isolation And Identification Analysis Method For *Salmonella typhimurium* In Milk Using Real-Time Pcr (Polymerase Chain Reaction). *Skripsi*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Oliveira, S.D., Rodenbusch, C.R., Michae, G.B., Cardoso, M.I., Canal, C.W, dan Brandelli, A. 2003. Detection Of Virulence Genes In *Salmonella Enteritidis* Isolated From Different Sources Braz. *Journal Microbiol.* 34(1): 123-124.
- Pertiwi, N.P.D., I.G.N.K Mahardika, dan N.L Watiniasih. 2015. Optimasi Amplifikasi Dna Menggunakan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Pada Ikan Karang Anggota Famili Pseudochromidae (DOTTYBACK) Untuk Identifikasi Spesies Secara Molekular. *Jurnal Biologi.* 19 (2): 1-5.
- Prayoga, W., A.K. Wardani. 2015. PCR Untuk Deteksi *Salmonella* Sp. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri.* 3 (2) : 483-488.
- Rahman, MT., M.S Uddin., dan R. Sultana., A. Moue., Setu. 2013. Polymerase Chain Reaction (PCR): A Short Review. *AKMMC Journal.* 4 (1): 30-36.
- Ramadhan, Fiqih. 2018. Identifikasi Dan Karakterisasi Bakteriofag Penginfeksi *Salmonella* Spp Penyebab Foodborne Diseases Isolat Indegenous Kencong, Jember. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.
- Sabbagh, S. C., C.G. Forest, C. Lapage, J.M. Leclerc, dan F. Daigle. 2010. Uncovering Distinctive Features In The Genomes Of *Salmonella enterica* Serovars Typhimurium And Typhi. *FEMS Microbial Lett.* 305 (1) : 1-13.
- Sambrook, J., D.W. Russel. 2001. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual.* 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Shalaby, A. G. A. 2012. Further Studies On *Salmonella* Species Isolated From Wild Birds. Ph.D. *Thesis*, Fac. Vet. Med. Cairo Univ.
- Shekhar, C., S. P. Singh. 2013. Plasmid Profile Analysis Of *Salmonella* Spp. From Man, Animals And Foods Of Animal Origin. *Journal Of Veterinary Public Health,* 11 (2) : 149-151.
- Suez, J., S. Porwollik, A. Dagan, A. Marzel, Y. I. Schorr, V. Agmon ,et al. 2013. Virulence Gene Profiling and Pathogenicity Characterization of Non-Typhoidal *Salmonella* Accounted for Invasive Disease in Humans. *PLoS ONE.* 8(3) : 1-21.
- Sunar, N.M., Stentiford., D.I Stewart, dan L.A Fletcher. 2014. Molecular Techniques To Characterize The Inva Genes Of *Salmonella* Spp. For Pathogen Inactivation Study In Composting. *Journal ORBIT.*

- Thomas, M.S., and S. Wigneshweraraj. 2014. Regulation of Virulence Genes Expression. *Journal Virulence*. 5 (8): 832-834.
- Thung, T, Y., S. Radu, N. A. Mahyudin, Y. Rukayadi, Z. Zakaria, N. Mazlan, B. H. Tan, E. Lee, et al. 2018. Prevalence, Virulence Genes And Antimicrobial Resistance Profiles Of Salmonella Serovars From Retail Beef In Selangor, Malaysia. *Frontiers In Microbiol*, 8: 1-8.
- Tosun, S. Y., D. Alakavuk, S. Mol. 2016. Isolation Of *Salmonella* Spp. And Other Members Of *Enterobacteriaceae* From Horse Mackerel (*Trachurus Trachurus*), Sold In Public Markets Of Istanbul, Turkey. *Journal Of Food And Health Science*, 2(2) : 82-89.
- WHO (World Health Organization). 2014. *Salmonella*. [Http://Www.Who.Int/Topics/Salmonella/En/](http://www.who.int/topics/salmonella/en/) [Diakses Pada 20 Oktober 2018].
- Wieczorek, K., J. Osek. 2013. Prevalence And Characterisation Of Salmonellain Slaughtered Cattle And Beef In Poland. *Bull Vet Inst Pulawy*, 57 : 607-611.
- Yang, R., J.H Zhang, dan G.Y Yuan. 2013. Establishment of an optimized PCR method using sequence-specific primers for screening multiple gene polymorphisms simultaneously. *Molecular Mecidine Reports*. 7 : 201-204.
- Yoshida, C., E. J. Lingohr, F. Trognitz, N. MacLaren, S. A. Murphy, A. Villegas, et al. 2014. Multi-Laoratory Evaluation Of The Rapid Genoserotyping Array (SGSA) For The Identification Of Salmonella Serovars. *Diagnostic Microbiology And Infections Disease*. 8D : 185-190.
- Zahra, Fiqih. 2018. Isolasi Dan Uji Virulensi Bakteriofag Penginfeksi Salmonella spp. Terhadap Bakteri Patogen Foodborne Disease Serta Pemanfaatannya Sebagai Buku Ilmiah Populer. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.
- Zeiner, S.A., B.E Dwyer, dan S. Clegg. 2019. *FimA*, *FimF*, and *FimH* are Necessary for Assembly of Type 1 Fimbriae on i Serovar Typhimurium. *Journal Infection and Immunity*. 80 (9): 3289-3296.

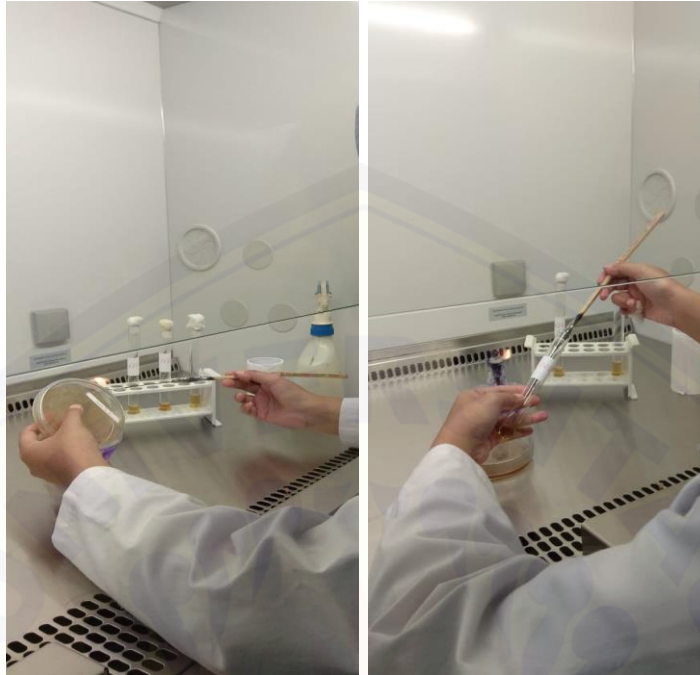
Lampiran A. Matriks Penelitian

MATRIKS PENELITIAN

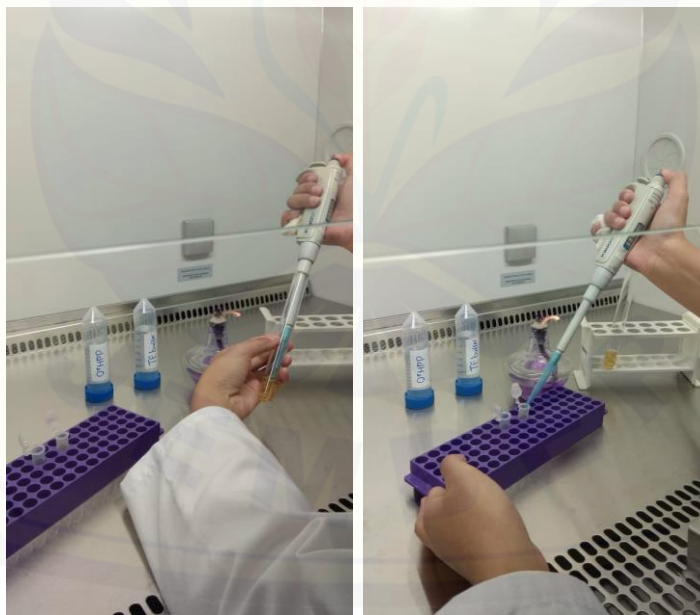
Judul	Latar Belakang	Rumusan Masalah	Variabel Penelitian	Metodelogi Penelitian
Deteksi Gen Virulensi <i>Salmonella</i> Spp. <i>Indigenous</i> Jember	<p>Bakteri dari keluarga Enterobacteriaceae bersifat patogen pada makanan. Makanan yang tercemar oleh keberadaan bakteri patogen dapat menyebabkan penyakit seperti diare. Salah satu diantaranya yang mengakibatkan infeksi serius adalah penyakit diare <i>hyperendemic/ Salmonellosis</i> yang terjadi pada manusia maupun hewan (Das <i>et al</i>, 2012).</p> <p><i>Salmonellosis</i> merupakan wabah penyakit yang disebabkan oleh <i>Salmonella</i> yang menginfeksi saluran pencernaan manusia (Tosun <i>et al</i>, 2016).</p> <p><i>Salmonellosis</i> disebabkan oleh virulensi</p>	<p>Apakah bakteri <i>Salmonella</i> spp. <i>indigenous</i> Jember mengandung gen virulensi <i>stn</i>, <i>fimA</i> dan <i>spvR</i> ?</p>	<ol style="list-style-type: none"> Bakteri <i>Salmonella</i> yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri P21D dan KP2. Gen virulensi yang dideteksi adalah gen <i>stn</i>, <i>fimA</i> dan <i>spvR</i>. 	<p>Penelitian ini merupakan penelitian deksriptif eksploratif.</p> <p>Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen virulensi: <i>stn</i>, <i>fimA</i> dan <i>spvR</i> pada dua isolat bakteri <i>Salmonella</i> spp. <i>indigenous</i> Jember.</p> <p>Teknik yang dilakukan pada penelitian ini</p>

	<p><i>Salmonella</i> terkait dengan kombinasi faktor kromosom dan plasmid. Gen yang berbeda seperti <i>inv</i>, <i>spv</i>, <i>fimA</i> dan <i>stn</i> telah diidentifikasi sebagai gen virulensi utama yang bertanggung jawab untuk <i>salmonellosis</i> (Sabbagh <i>et al</i>, 2010). Terkait dengan keberadaan gen virulensi pada <i>Salmonella</i>, penelitian ini menggunakan dua bakteri <i>Salmonella indigenus</i> Jember yang diperoleh dari Zahra (2018) yaitu bakteri <i>Salmonella</i> P21D, diisolasi dari ikan yang berasal dari Puger dan Ramadhan (2018) yaitu <i>Salmonella</i> KP2 berasal dari Kencong.</p> <p><i>Salmonella</i> diisolasi dari daerah tersebut karena Kabupaten Jember, khususnya di Kecamatan Kencong pada tahun 2016 tercatat mengalami kejadian keracunan makanan dengan jumlah kasus 225. Meskipun statusnya telah menurun tapi kontaminasi</p>			menggunakan PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).
--	---	--	--	---

	<p>bakteri pada makanan di wilayah Kencong masih terdeteksi kembali pada bulan Maret 2017 dari hasil sampling yang dilakukan oleh Dinas Kesehatan Jember (Diah, 2016). Sedangkan Salmonella dari Puger diisolasi dari sampel ikan yang merupakan hasil komoditas utama dari daerah Puger. Urgensi dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi keberadaan gen virulensi pada kedua isolat <i>indigenous</i> Jember.</p>			
--	--	--	--	--

Lampiran B. Dokumentasi Penelitian

Gambar B1. Peremajaan bakteri *Salmonella* dari medium SSA ke medium LB.

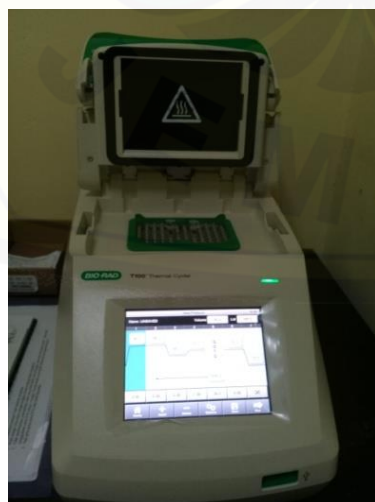




Gambar B2. Ekstraksi dengan metode PCR colony dan *boiling*.



Gambar B3. Persiapan PCR



Gambar B4. Proses PCR



Gambar B5. *Running* elektroforesis.



Gambar B6. Visualisasi dengan *gel documentation*.

Lampiran C. Surat Izin Penelitian

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi-CDAST
Jl Kalimantan No. 37, Kampus Tegalboto Jember, 68121 Telp./Fax: +62-331-321825
Web: cdast.unej.ac.id, Email: cdast@unej.ac.id

Nomor : 229/UN25/TU/CDAST/2018
Lampiran : -
Hal : Persetujuan Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Pembantu Dekan I FKIP Universitas Jember
Di
Tempat


Menindaklanjuti surat Pembantu Dekan I FKIP Universitas Jember, Nomor: 7669/UN25.1.5/LT/2018 Tanggal 26 Oktober 2018 Perihal Permohonan Ijin Penelitian di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi-CDAST atas nama mahasiswa di bawah ini:

Nama : Irma Suryaningsih
NIM : 150210103096
Institusi : FKIP Biologi Universitas Jember
Dosen Penanggung Jawab : Eria Narulita, S.Pd., M.Si., Ph.D
Judul Penelitian : Deteksi Gen Virulen *Salmonella spp* Indigenous Jember

Dengan ini disampaikan bahwa permohonan ijin atas nama mahasiswa tersebut diatas dapat disetujui. Atas perhatian dan kerjasamanya kami mengucapkan terima kasih.

Jember, 6 Desember 2018
Kepala

Bambang Sugiharto
NIP. 195510221982121001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
 Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121
 Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-332475
 Laman: www.fkip.unj.ac.id

Nomor : 3125/UN25.1.5/LT/2018
 Lampiran : -
 Perihal : Permohonan Izin Penelitian

13 APR 2018

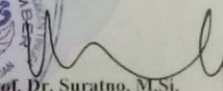
Yth. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
 Universitas Jember
 Jember

Diberitahukan dengan hormat, bahwa mahasiswa FKIP Universitas Jember di bawah ini:

Nama	NIM	Judul Penelitian
Ria Yulian	150210103036	Identifikasi Asam Nukleat dan Protein Bakteriofag <i>Salmonella</i> spp. <i>Foodborne Diseases</i>
Desy Rochmiah	150210103092	Identifikasi Asam Nukleat Bakteriofag <i>Escherichia coli</i> <i>Foodborne Diseases</i>
Ma Suryaningsih	150210103096	Identifikasi Protein Bakteriofag <i>Escherichia coli</i> <i>Foodborne Diseases</i>

Berkenaan dengan penyelesaian studinya, mahasiswa tersebut bermaksud melakukan penelitian identifikasi bakteriofag di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember yang Saudara pimpin. Sehubungan dengan hal tersebut, mohon Saudara berkenan memberikan izin dan sekaligus memberikan bantuan informasi yang diperlukannya.

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik kami sampaikan terima kasih.


 n. Dekan
 Wakil Dekan I.
Prof. Dr. Suratno, M.Si.
 NIP. 19670625 199203 1 003

*Ases up
 riset
 di lab
 Mikrobiologi
 MIPA*

Tembusan Yth:

1. Ketua Jurusan Biologi Fakultas MIPA UNEJ
2. Kepala Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA UNEJ
3. Arsip

Lampiran D. Lembar Konsultasi Penyusunan Skripsi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121
Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-334988
Laman: www.fkip.unej.ac.id

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI
Pembimbing Utama

Nama : Irma Suryaningsih
NIM : 150210103096
Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi
Judul : "Deteksi Gen Virulensi *Salmonella* spp. *indigenus* Jember"

Pembimbing Utama : Erlia Narulita, S.Pd., M.Si., Ph.D
Kegiatan Konsultasi

No.	Hari/ Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1.	25 September 2018	Penentuan Judul	ers
2.	10 Oktober 2018	Pengajuan BAB 1 dan 2	ers
3.	20 Oktober 2018	Revisi BAB 1 dan 2	ers
4.	27 Oktober 2018	Pengajuan BAB 1, 2 dan 3	ers
5.	1 November 2018	Revisi BAB 1, 2 dan 3	ers
6.	13 November 2018	Pengajuan BAB 1, 2, 3, dan lampiran	ers
7.	28 November 2018	Revisi BAB 1, 2, 3, dan lampiran	ers
8.	1 Desember 2018	ACC seminar proposal	ers
9.	06 Desember 2018	Seminar proposal	ers
10.	1 Februari 2019	Konsultasi penelitian	ers
11.	13 Februari 2019	Penyerahan hasil penelitian dan pengajuan BAB 1, 2, 3 dan 4	ers
12.	04 Maret 2019	Revisi BAB 1, 2, 3, 4, 5, dan lampiran serta penyerahan artikel	ers
13.	18 April 2019	Revisi BAB 1, 2, 3, 4, 5, dan artikel	ers
14.	29 April 2019	ACC ujian Skripsi	ers

Catatan:

1. Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi
2. Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121
Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-334988
Laman: www.fkip.ujember.ac.id

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI
Pembimbing Anggota

Nama : Irma Suryaningsih
NIM : 150210103096
Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi
Judul : "Deteksi Gen Virulensi *Salmonella* spp. *Indigenensis* Jember"

Pembimbing Anggota : Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd.
Kegiatan Konsultasi

No.	Hari/ Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1.	25 September 2018	Penentuan Judul	
2.	15 Oktober 2018	Pengajuan BAB 1 dan 2	
3.	22 Oktober 2018	Revisi BAB 1 dan 2	
4.	30 Oktober 2018	Pengajuan BAB 1, 2 dan 3	
5.	6 November 2018	Revisi BAB 1, 2 dan 3	
6.	13 November 2018	Pengajuan BAB 1, 2, 3, dan lampiran	
7.	20 November 2018	Revisi BAB 1, 2, 3, dan lampiran	
8.	27 November 2018	ACC seminar proposal	
9.	06 Desember 2018	Seminar proposal	
10.	13 Februari 2019	Konsultasi penelitian	
11.	11 Maret 2019	Penyerahan hasil penelitian dan pengajuan BAB 1, 2, 3 dan 4	
12.	29 April 2019	Revisi BAB 1, 2, 3, 4, 5, dan lampiran serta penyerahan artikel	
13.	10 Mei 2019	ACC ujian Skripsi	

Catatan:

1. Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi
2. Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi