

INVESTIGASI *Bacillus cereus* DAN *Salmonella* PADA NASI GORENG PEDAGANG KAKI LIMA DI SEKITAR KAMPUS UNIVERSITAS JEMBER

*Investigation of Bacillus cereus and Salmonella in Fried Rice
Sold by Street Vendor Around Campus*

Eka Ruriani¹⁾ dan Nurhayati¹⁾

¹⁾ Staf Pengajar Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember
E-mail: rurianiftp@yahoo.com

ABSTRACT

Food safety in fast food is very important to be observed, since it is potential to cause the incidence of food borne diseases. This research investigated the presence of two pathogenic microorganisms that are *Bacillus cereus* and *Salmonella* in fried rice, as one of fast food sold by street vendor around Jember University campus. The sampling was done three times at five location for every two hours started at six pm until ten pm in temperature 25-28⁰C and RH 55-66%. The media used in this investigation were MYP for *B. cereus* and some media (LB, SSA, BSA, SCB, TSIA, and LIA) for *Salmonella*. The result founded that seven samples contaminated by *B. cereus*, four samples contaminated by *Salmonella* (*S. paratyphimurium* B or C) and three samples contaminated by another pathogens which were suspected as *Yersinia enterocolitica* or *Vibrio cholerae*.

Key words: *Bacillus cereus*, food borne disease, fried rice, *Salmonella*

PENDAHULUAN

Krisis ekonomi di Indonesia yang berkepanjangan menuntut masyarakat untuk lebih bijaksana mengatur kondisi perekonomiannya. Peningkatan harga bahan pokok yang sangat signifikan, tetapi tidak diiringi dengan peningkatan pendapatan yang cukup signifikan menyebabkan sebagian besar masyarakat kurang memperhatikan kualitas produk pangan yang dikonsumsi. Fenomena ini juga terjadi di lingkungan kehidupan kampus. Mahasiswa lebih memilih makanan yang ekonomis, murah, dan praktis. Selain itu padatnya aktivitas akademis di kampus menyebabkan mahasiswa tidak memungkinkan untuk memasak makanan sendiri.

Menghadapi fenomena tersebut merupakan suatu peluang bagi para pedagang kaki lima untuk

mengembangkan bisnis makanan siap saji (*fast food*). Terbukti dengan semakin banyaknya para pedagang kaki lima yang berjualan di sekitar lingkungan Universitas Jember. Mencermati perkembangan usaha makanan siap saji yang cukup pesat, merupakan hal yang penting untuk memperhatikan aspek kesehatan dan keamanan makanan. Karena jika produk yang dihasilkan tidak sehat dapat menyebabkan keracunan makanan dan menjadi sumber penyakit dalam jangka waktu tertentu sebagai efek jangka panjang (*long term effect sequently*).

Menurut Fardiaz (1997) makanan siap saji yang banyak dijual oleh pedagang kaki lima berisiko terkena cemaran mikroba patogen karena kualitas air yang tidak memenuhi syarat, pembuangan sampah sembarangan, maupun higienitas dan sanitasi yang tidak baik..

Salah satu sumber penyebab terjadinya keracunan makanan adalah penggunaan nasi yang sudah dingin sebagai bahan baku nasi goreng. Hal ini perlu diwaspadai karena ada kemungkinan terjadi kontaminasi senyawa enterotoksin *B. cereus*, mengingat bakteri ini sering ditemukan pada nasi basi. Menurut Sibuea (2006) *B. cereus* dapat tumbuh pada makanan siap santap dan membentuk toksin di dalamnya. Dewanti (2005) menyatakan sedikitnya ada dua macam toksin *B. cereus* yang diketahui dapat menyebabkan keracunan, yaitu toksin emetik penyebab muntah selama 2-6 jam setelah konsumsi dan toksin penyebab diare bereaksi setelah 12-24 jam konsumsi.

Kasus keracunan makanan akibat mengkonsumsi nasi goreng sudah sering terjadi, namun masyarakat belum banyak yang menyadarinya. Pada tahun 2004 ditemukan sejumlah 59 anak menderita keracunan setelah mengkonsumsi nasi goreng dalam acara ulang tahun di daerah Kalimantan Tengah. Gejala yang ditimbulkan antara lain: mual, pusing, dan muntah satu jam setelah konsumsi. Tahun 2005 sejumlah 86 santri wanita di daerah Jawa Timur mengalami gejala yang sama setelah mengkonsumsi nasi goreng yang dibeli dari kantin (Anonim, 2005). Pada tahun yang sama ditemukan sejumlah 17 karyawan pabrik yang berlokasi di Tangerang mengalami hal serupa, bahkan ada yang pingsan sesaat setelah mengkonsumsi nasi goreng yang dibeli di kantin pabrik (Gsianturi, 2005).

Patogen lain yang sering menjadi penyebab keracunan makanan adalah *Salmonella*. Beberapa strain dari *Salmonella* telah banyak mencemari bahan pangan segar dan olahan dan menyebabkan *outbreak* di beberapa negara seperti *outbreak Alfafa seed* (tauge) di California, *Outbreak* di Oraneinburg. Srianta dan Elisa (2002) telah melakukan deteksi *Salmonella* pada nasi goreng Restoran Kereta Api

Kelas Ekonomi dengan hasil positif terdapat 23 koloni (1 koloni *S. thypimurium*, *S. paratyphi* dan 1 koloni *S. enteridis*, sedangkan 19 koloni lainnya belum teridentifikasi).

Investigasi *B. cereus* dan *Salmonella* pada nasi goreng ini diharapkan dapat mengidentifikasi keberadaan kedua mikroorganisme tersebut dalam setiap porsi penyajian. Selain itu juga perlu dilakukan observasi terhadap cara pengolahan dan penyajian untuk mengetahui mata rantai terjadinya kontaminasi, sehingga masyarakat dapat mengkonsumsi dan memproduksi nasi goreng yang sehat dan aman.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 3 (tiga) bulan. Lokasi pengambilan sampel adalah pedagang kaki lima di sekitar kampus Universitas Jember (Jalan Jawa 3 lokasi dan Jalan Kalimantan 2 lokasi). Tempat analisa di Laboratorium Mikrobiologi Pangan & Hasil Pertanian Jurusan THP FTP Universitas Jember.

Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi: (i) pengambilan sampel, (ii) isolasi *B. cereus* dan *Salmonella*, (iii) seleksi pada media selektif (pemupukan dan pengayaan), dan (iv) analisis mikrobiologis (morfologi dan identifikasi).

Rancangan Percobaan

Penelitian bersifat eksplorasi terhadap keberadaan *B. cereus* dan *Salmonella* dengan membandingkan nasi putih sebagai bahan baku dan nasi goreng per porsi penyajian. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pengolahan terhadap keberadaan kedua mikroba.

Sampling dilakukan sebanyak 3 kali pada interval waktu 2 jam, yaitu pukul 18.00 WIB, 20.00 WIB dan 22.00 WIB. Hal ini dilakukan untuk

mengetahui perubahan paparan mikroba selama waktu penyajian.

Media yang digunakan spesifik yaitu MYP untuk *B. cereus* dan beberapa media (LB, SSA, BSA, SCB, TSIA, dan LIA) untuk *Salmonella*.

Bahan dan alat

Bahan utama yang digunakan adalah nasi putih sebagai bahan baku nasi goreng dan nasi goreng. Media yang digunakan meliputi MYP, LB, SSA, BSA, SCB, TSIA, dan LIA (Merck), sedangkan bahan-bahan kimia yang digunakan yaitu NaCl (pengencer fisiologis), kristal violet, larutan yodium dan safranin. Alat-alat yang digunakan meliputi: inkubator, autoklaf dan alat analisis mikrobiologis.

Metode Analisis

Penentuan morfologi bakteri dengan pewarnaan gram (Pelczar dan Chan, 1986; Fardiaz, 1989)

Satu mata ose koloni *B. cereus* dan *Salmonella* ditempatkan pada gelas objek, kemudian ditetesi dengan larutan fisiologis/aquades 2-3 tetes dan dilakukan fiksasi di atas api. Setelah itu ditetesi dengan pewarna pertama (kristal violet yodium), dibiarkan sampai kering (1-2 menit), dicuci dengan alkohol, kemudian ditetesi dengan pewarna kedua (safranin), dibiarkan beberapa menit (10-20 detik) dan dicuci dengan air mengalir. Pengamatan di bawah mikroskop menggunakan lensa obyektif minyak imersi dengan perbesaran kecil ke besar. Uji positif *B. cereus* jika tetap berwarna ungu berbentuk basil/batang.

Identifikasi Bacillus cereus (AOAC, 1999)

Tahap identifikasi didahului dengan pelarutan sampel dalam larutan fisiologis dengan perbandingan 10 g dalam 100 ml larutan fisiologis. Kemudian dilakukan pemupukan langsung pada MYP dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam.

Pengamatan dan perhitungan terhadap koloni yang berwarna kuning atau hijau dengan bentuk koloni bulat melebar permukaan cembung.

Identifikasi Salmonella (AOAC, 1999)

Tahap identifikasi didahului dengan pra pengayaan menggunakan media *Lactose Broth (LB)* dan pengayaan selektif dengan media SCB pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan proses pengenceran dan pemupukan langsung pada media BSA dan SSA. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24–48 jam. Setelah itu isolasi dan perhitungan terhadap koloni berwarna coklat, abu-abu atau hitam dan selanjutnya dilakukan uji identifikasi dalam dengan media TSIA dan atau LIA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil Sampel

Di sekitar kampus Universitas Jember terdapat puluhan pedagang kaki lima (PKL) yang berjualan nasi goreng sejak pukul lima sore hingga tengah malam, bahkan ada yang sampai dini hari. Kondisi tempat berjualan yang sebagian besar menggunakan gerobak cukup bervariasi. Beberapa pedagang menggunakan gerobak yang cukup bagus dan bersih, pencahayaan cukup, penataan bahan/peralatan tepat, dan spanduk yang menarik, sehingga tidak terkesan kumuh. Tetapi sebagian pedagang kondisinya kurang memperhatikan faktor-faktor tersebut. Pengambilan sampel dilakukan secara acak mewakili kedua kondisi tersebut.

Sampel dalam penelitian terhadap nasi putih dan nasi goreng per satu porsi sajian. Sampel nasi goreng yang diuji tanpa menggunakan saus, telur atau ayam. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa mikroba patogen yang diinvestigasi bersumber dari nasi goreng dan proses pengolahannya (peralatan dan pekerja), bukan dari

bahan lain yang berpotensi menjadi sumber kontaminan.

Oleh karena itu pengambilan nasi putih sebagai sampel dimaksudkan untuk mengetahui apakah terjadi kontaminasi awal sebelum proses penggorengan. Hal ini untuk mendapatkan informasi kemungkinan terjadinya kontaminasi pada bahan baku sebelum proses pengolahan. Kemungkinan tersebut sangat besar terjadi, karena pada sebagian PKL yang menjadi obyek sampling memiliki pengaturan bahan baku yang kurang higienis. Nasi putih sebagai bahan baku nasi goreng ditempatkan pada wadah terbuka tanpa penyimpanan yang layak dalam kondisi dingin (tanpa pemanas nasi atau lemari pendingin) selama penjual menjajakan dagangannya, kurang lebih sekitar 6 jam, bahkan lebih dari 6 jam untuk PKL yang berjualan hingga dini hari.

Hal ini sangat rentan untuk terjadinya kontaminasi, karena penyimpanan makanan selama 6-12 jam atau lebih tanpa lemari pendingin bisa menyebabkan kontaminasi oleh bakteri pembentuk spora yang relatif tahan panas seperti *C. perfringens* dan *B. cereus* (Fardiaz, 1997). Oleh karena itu dianjurkan agar tidak menyimpan makanan dalam waktu lama, apalagi hanya pada suhu kamar. Jika terjadi penundaan antara proses pemasakan dan konsumsi, maka sebaiknya makanan disimpan pada suhu rendah ($< 7^{\circ}\text{C}$) atau pada suhu di atas 71°C (Dinata, 2006).

Untuk mengetahui kemungkinan terjadinya kontaminasi silang dan ulang akibat rendahnya higienitas dan sanitasi alat, bahan, dan pekerja dalam investigasi ini juga pengamatan terhadap kondisi lingkungan sekitar terutama aspek kebersihannya. Hal ini dikarenakan posisi berjualan di pinggir jalan menyebabkan debu, kotoran ataupun asap kendaraan menjadi sumber kontaminan juga.

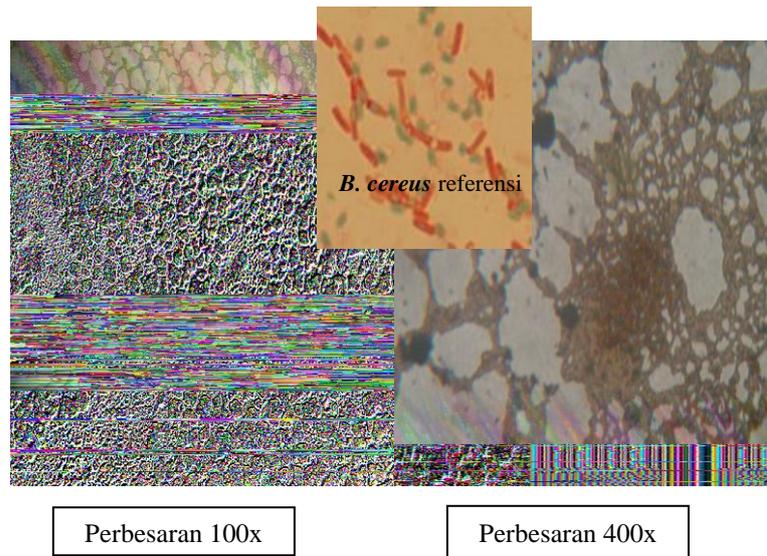
Investigasi *Bacillus cereus*

Keberadaan *B. cereus* pada nasi goreng bisa mengindikasikan bahan baku (nasi atau berasnya) yang sudah mengandung spora *B. cereus* atau terjadi kontaminasi selama rantai penyediaan (*from frying to the table*). Hasil investigasi menunjukkan ada 7 sampel dari 15 sampel nasi goreng yang mengandung *B. cereus*, sedangkan dari 15 sampel nasi putih yang diuji tidak ditemukan keberadaan *B. cereus*. Hal ini dapat diduga bahwa kontaminasi terjadi selama rantai penyediaan (kontaminasi silang atau ulang) akibat rendahnya tingkat sanitasi dan higienitas alat, bahan, dan pekerja termasuk air bersih yang digunakan mengingat sirkulasi air bersih pada PKL sangat minim.

Dewanti (2005) menyatakan bahwa keracunan makanan siap santap terjadi karena bakteri patogen bukan pembentuk spora melalui kontaminasi silang (*cross contamination*) maupun kontaminasi ulang (*recontamination*) yang terjadi setelah pemasakan. Kontaminasi silang terjadi jika sarana, wadah atau alat pengolahan dan penyimpanan digunakan bersama-sama, baik untuk bahan mentah maupun bahan yang telah matang. Kontaminasi ulang terutama terjadi karena kurangnya sanitasi dan hygiene penggunaan air, sarana, wadah, atau alat penyimpanan yang tercemar, serta oleh pekerja yang tidak menjaga kebersihan dirinya.

Keberadaan *B. cereus* ini dapat diketahui dari pengamatan koloni pada media MYP dengan tanda-tanda yaitu adanya pertumbuhan koloni berbentuk opak melebar dengan permukaan cembung, warna cerah hijau keputihan.

Hasil pewarnaan gram untuk menguji kebenaran dugaan terhadap *B. cereus* berdasarkan bentuk mikroskopis menunjukkan bakteri yang diduga adalah gram positif (warna merah muda) dengan bentuk bulat lonjong (basil) seperti yang disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1 Koloni *Bacillus cereus* di bawah pengamatan mikroskop perbesaran 100x dan 400x pada media MYP

Perbedaan waktu investigasi menunjukkan adanya perbedaan paparan *B. cereus*, yaitu relatif terjadi peningkatan jumlah koloni pada sampel yang teruji positif *B. cereus* dari investigasi tahap I, II dan atau III. Dan prediksi jumlah paparan dilakukan berdasarkan jumlah koloni pada masing-masing tahap investigasi yang berkisar antara 8-48 koloni/gram sampel.

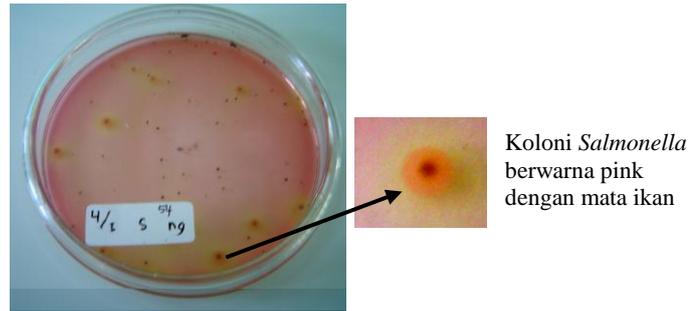
Investigasi Salmonella

Keberadaan *Salmonella* pada nasi goreng bisa mengindikasikan tingkat sanitasi alat dan bahan-bahan nasi goreng pada PKL. Hal ini juga memungkinkan adanya sifat pembawaan dari orang-orang yang terlibat selama penyajian (sanitasi pekerja) mengingat penjualan dilakukan di pinggir-pinggir jalan.

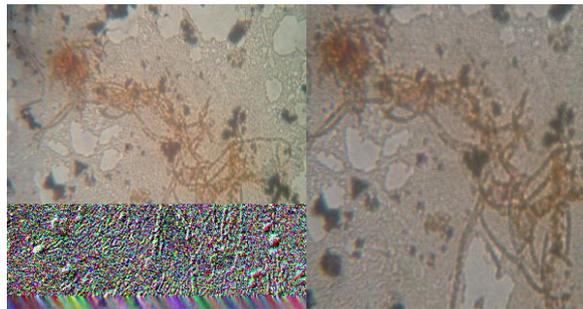
Sibuea (2006) menyatakan bahwa sekitar 80% kasus keracunan pangan adalah akibat rendahnya tingkat kebersihan saat pengolahan makanan.

Buruknya sanitasi menjadi pendorong perkembangan mikrobia patogen (*foodborne pathogen*) yang pada gilirannya menyebabkan keracunan. Mikrobia patogen menempati posisi teratas penyebab keracunan pangan dengan jumlah kasus 80–90%.

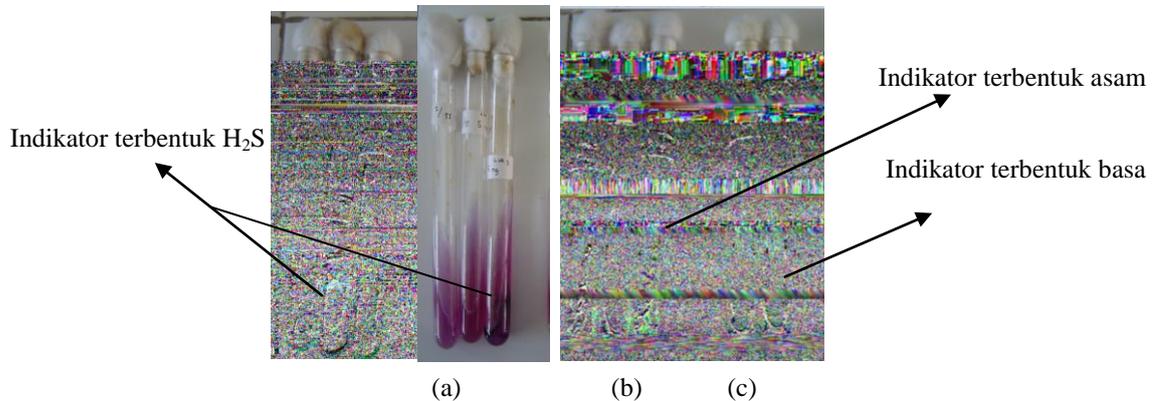
Berdasarkan hasil investigasi pada media lanjut ditemukan ada 4 sampel dari 15 sampel nasi goreng yang mengandung *Salmonella paratyphimurium* B atau C, dan 3 sampel yang diduga mengandung *Yersinia enterocolitica* atau *Vibrio cholerae*. Pengamatan ciri-ciri makroskopis dilakukan dengan membiakkan pada media *Bismuth Sulphite Agar* (BSA) dan *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis *Salmonella* pada media BSA adalah adanya koloni berbentuk bulat, tepi utuh, warna hitam/mata ikan, ukuran 1–2 mm, kenaikan permukaan melengkung, tekstur halus, mukoid dan opak. Ciri-ciri tersebut disajikan pada **Gambar 2 dan 3**.



Gambar 2 Contoh uji positif *Salmonella* pada media SS-Agar (sampel nasi goreng)



Gambar 3 Koloni *Salmonella* di bawah pengamatan mikroskop perbesaran 100x dan 400x



Gambar 4 Perubahan warna hitam (a), kuning (b) dan merah (c) pada media TSIAA akibat pertumbuhan *Salmonella*

Perubahan tersebut menurut Fardiaz (1989) merupakan indikator karakteristik *Salmonella* yang tumbuh. Munculnya warna hitam yang disertai gelembung gas (**Gambar 4a**) mengindikasikan bahwa *Salmonella* yang tumbuh merupakan penghasil gas H_2S , warna kuning (**Gambar 4b**) merupakan indikator pembentukan asam, dan warna merah (**Gambar 4c**) indikator

pembentukan basa sebagai hasil metabolisme. Melalui uji TSIA dapat diidentifikasi lebih lanjut karakteristik *Salmonella* yang tumbuh, yaitu tergolong ke dalam jenis penghasil gas H_2S , asam, atau basa.

Perbedaan waktu investigasi tidak menunjukkan adanya perbedaan paparan *Salmonella*, yaitu pada investigasi tahap I tidak mengandung *Salmonella* maka

pada investigasi tahap II atau III (selanjutnya) juga tidak mengandung bakteri ini. Akan tetapi jumlah paparan tidak dapat dihitung dengan tepat karena investigasi dilakukan dengan metode konvensional yaitu pembiakan dalam media yang diperkaya terlebih dahulu.

Hasil penelitian masih belum bisa menunjukkan kemampuan nasi goreng yang mengandung *B. cereus* maupun *Salmonella* untuk bisa menyebabkan penyakit karena belum diketahui jumlah selnya. Selain jumlah sel, yang menjadi faktor penting adalah kondisi tubuh konsumen (seberapa besar resistennya terhadap bakteri patogen). Sedangkan kondisi konsumen sangat beragam dan sulit sekali untuk menentukan resistensinya. Dari hasil ini dapat dinyatakan bahwa sampel nasi goreng tersebut berpotensi menjadi sumber penyebaran *B. cereus* maupun *Salmonella*, namun daya patogenitasnya belum diketahui.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Beberapa hal yang dapat disimpulkan antara lain yaitu: 7 sampel dari 15 sampel nasi goreng yang diinvestigasi yang mengandung koloni *Bacillus cereus*, 4 sampel dari 15 sampel nasi goreng yang diinvestigasi mengandung koloni *Salmonella* Tipe Lain seperti *S. paratyphimurium* B atau C dan 3 sampel dari 15 sampel nasi goreng yang diinvestigasi yang mengandung koloni selain *Salmonella* yaitu diduga jenis *Yersinia enterocolitica* atau *Vibrio cholerae* dari satu lokasi investigasi.

Saran

Saran yang direkomendasikan dari hasil penelitian ini adalah diharapkan ada penelitian lanjutan dengan metode investigasi/kajian paparan kuantitatif menggunakan uji-uji modern (ELISA/

impedansi) sehingga dapat mengetahui jumlah paparan *Bacillus cereus* dan *Salmonella* secara pasti dan cepat pada nasi goreng PKL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas Jember, Departemen Pendidikan Nasional, yang telah mendanai penelitian ini melalui sumber dana DIPA, dengan Nomor Kontrak 5560/H25/PP.9/2007 tertanggal 11 Juni 2007.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (2005). 59 Anak Keracunan Nasi Goreng. <http://www.indonesia.com> (12 Februari 2007)
- Anonim (2005). Santri Wanita Langitan Keracunan Nasi Goreng. <http://www.media-Indonesia.com> (15 Maret 2007)
- AOAC (1999). *Official Methods of Analysis of AOAC International*^{16th}. USA
- Dewanti R (2005). Mencegah Keracunan Makanan Siap Santap. <http://www.kompas.com>(3 Februari 2006)
- Dewanti R (2006). *Conceptual Equation dalam Microbiology of Food Safety. Handout*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Dinata A (2006). Bakteri Penyebab Keracunan Makanan. <http://www.pikiranrakyat.com> (20 Januari 2006)
- Fardiaz S (1989). *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan*. PAU Institut Pertanian Bogor, Bogor

- Fardiaz S (1997). Mikroba dalam Makanan. <http://www.google.co.id> (4 Maret 2007)
- Gsianturi (2005). 17 Karyawan Pabrik Garmen Keracunan. <http://www.gizi.net> (2 Februari 2007)
- Pelczar MJ dan Chan ECS (1986). *Dasar-Dasar Mikrobiologi, Terjemahan Ratna SH dkk.* Universitas Indonesia, Jakarta
- Russel *et al.* (2006). Detection and Typing of Bacterial Strain, Applied and Environmental. United States Patent Application. USA. <http://www.google.com/salmonella> (2 April 2007)
- Sibuea (2006). Keracunan Pangan Pengungsi. <http://www.kompas.com> (17 Februari 2007)
- Soegianto (2005). Kesehatan Ibu dan Anak. <http://www.google.co.id> (5 Januari 2007)
- Srianta dan Elisa R (2002). Deteksi *Salmonella* pada Nasi Goreng yang Disediakan oleh Restoran Kereta Api Kelas Ekonomi. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Malang 30-31 Juli 2002
- Stanier RY (1971). *General Microbiology*. Macmillan Student Edition
- Todar (2006). *Bacillus cereus*. <http://www.textbookofbacteriology.net> (20 Mei 2007)