

TESIS

**DETEKSI GEN *prs* SEBAGAI SKRINING *Listeria spp.* PADA
SAYURAN SEGAR YANG DIJUAL DI KOTA MAKASSAR**

***THE DETECTION OF *prs* GENE AS SCREENING *Listeria
spp.* IN FRESH VEGETABLES SOLD IN MAKASSAR CITY***

**A.KAISAR ADIWIJAYA PUTRA
P062172002**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

TESIS

**DETEKSI GEN *prs* SEBAGAI SKRINING *Listeria spp.* PADA
SAYURAN SEGAR YANG DIJUAL DI KOTA MAKASSAR**

***THE DETECTION OF *prs* GENE AS SCREENING *Listeria
spp.* IN FRESH VEGETABLES SOLD IN MAKASSAR CITY***

**A.KAISAR ADIWIJAYA PUTRA
P062172002**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**DETEKSI GEN *prf* SEBAGAI SKRINING *Listeria spp.* PADA
SAYURAN SEGAR YANG DIJUAL DI KOTA MAKASSAR**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

A. KAISAR ADIWIJAYA PUTRA

Kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDIDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

DETEKSI GEN *prs* SEBAGAI SKRINING *Listeria spp.* PADA SAYURAN SEGAR YANG DIJUAL DI KOTA MAKASSAR

Disusun dan diajukan oleh:

A. KAISAR ADIWIJAYA PUTRA

Nomor Pokok : P062172002

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 25 Mei 2021. dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


dr. Firdaus Hamid, Ph.D

NIP : 1977 1231 2002 12 1002


dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, Ph.D

NIP : 1969 0918 1996 03 2001

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik


Dr. dr. Ika Yustisla, S.Ked, M.Sc

NIP : 1977 0121 2003 12 2003

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin


Prof. Dr. Jamaluddin Jompa, M.Sc

NIP : 1967 0308 1990 03 1001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : A. Kaisar Adiwijaya Putra
NIM : P062172002
Program Studi : Ilmu Biomedik
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Deteksi Gen *prf* sebagai Skrining *Listeria spp.* pada Sayuran Segar yang Dijual di Kota Makassar

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa Tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 02 Juni 2021

Yang Menyatakan



A. Kaisar Adiwijaya Putra

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji dan syukur kepada Allah SWT, Tuhan yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang yang telah memberi rahmatNya berupa akal, pikiran, ide dan kesehatan kepada penulis, hingga penulis bisa menyusun dan menyelesaikan tesis ini sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar master di program studi Ilmu Biomedik konsentrasi Mikrobiologi, Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari bahwa selama menyusun tesis ini begitu banyak halangan dan masalah yang menghambat, namun berkat tekad, doa, bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak sehingga masalah tersebut dapat teratasi sampai selesainya tesis ini. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada berbagai pihak yang selalu ikhlas dan sabar dalam membantu penulis, semoga Allah selalu membalas jasa-jasanya.

Dengan penuh rasa hormat penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada dr. Firdaus Hamid, Ph.D. selaku pembimbing pertama dan dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, Ph.D. selaku pembimbing kedua, yang senantiasa telah meluangkan waktu, pikiran, membantu dan memotivasi penulis dalam menyelesaikan penelitian dan tesis ini.

Terima kasih penulis ucapkan kepada dr. Arif Santoso, Sp.P, Ph.D,FAPSR, Dr. dr. Dianawaty Amiruddin, Sp.KK dan Dr. dr. A. Alfian Zainuddin, MKM sebagai tim penguji yang telah banyak memberi

masukan atau saran dan pertanyaan-pertanyaan yang membuka pikiran penulis untuk lebih mendalami tesis ini. Dalam kesempatan ini, penulis juga tulus mengucapkan terima kasih kepada Ketua Program Studi Ilmu Biomedik, Dr. dr. Ika Yustisia, S. Ked, M.Sc yang telah meluangkan waktu untuk menuntun kami menyelesaikan tesis ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada teman-teman angkatan 2017(2) Mikrobiologi atas bantuannya selama perkuliahan hingga penyusunan tesis, para laboran dan teman di HUM-RC Mikrobiologi Unhas atas bimbingan dan bantuannya selama penelitian, dan bapak ibu petugas akademik di Pascasarjana Unhas dalam membantu dan melayani kami penuh kesabaran.

Terakhir penulis ucapkan rasa syukur dan terima kasih yang tak terkira kepada orang tua dan keluarga yang selalu mendoakan dan mendukung dalam menempuh pendidikan ini hingga selesai.

Demikian tesis ini, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang bersifat perbaikan, dan semoga tesis ini dapat bermanfaat kepada berbagai pihak. Terima Kasih, *Jazakumullah khair* dan Wassalam.

Makassar, Juni 2021

A. Kaisar Adiwijaya Putra

ABSTRAK

A. KAISAR ADIWIJAYA PUTRA. *Deteksi Gen PRS sebagai Skrining Listeria spp. pada Sayuran Segar yang Dijual di Kota Makassar (dibimbing oleh Firdaus Hamid dan Rizalinda Sjahril).*

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keberadaan *Listeria spp.* melalui skrining gen PRS terhadap sayuran segar yang didistribusikan di pasar tradisional Kota Makassar.

Sebanyak 57 sampel sayuran segar dikumpulkan selama Februari sampai dengan Mei 2019 di empat pasar tradisional Makassar. Isolat diuji untuk fenotipik dan genotip Vitek dan Multiplex PCR dengan PRS dan Imo 1030 primer.

Hasil analisis fenotip tidak menunjukkan keberadaan *Listeria spp.* tetapi genotipik ditemukan delapan sampel gen PRS positif (14,03%) yang terdiri dari 31,2% kacang panjang, 18,2% kol, dan 9,1% mentimun. Semua spesies *Listeria* yang ditemukan dalam penelitian ini adalah *Listeria monocytogenes*. Penelitian ini juga membuktikan bahwa gen PRS dapat digunakan sebagai skrining genotipe untuk mengidentifikasi *Listeria spp.* dalam sayuran segar.

Kata kunci: sayuran segar, *Listeria monocytogenes*, PCR multiplex, gen PRS



ABSTRACT

A.KAISAR ADIWIJAYA PUTRA. *The Detection of PRS Gene as Screening Listeria spp in Fresh Vegetables Sold in Makassar City* (supervised by **Firdaus Hamid** and **Rizallinda Sjahril**)

The research aims to investigate the existence of *Listeria* spp through the screening of PRS gene in fresh vegetables sold in the traditional markets in Makassar City.

There were 57 samples of fresh vegetables obtained from February to May 2019 in four traditional markets in Makassar. Isolates were tested for phenotypic and genotypic Vitek and Multiplex PCR with PRS and primary Imo 1030.

The results indicate that phenotypic analysis does not indicate the existence of *Listeria* spp, but genotypic analysis indicates eight samples of positive PRS gene (14.03%) consisting of 31.2% long beans, 18.2% cabbage, and 9.1% cucumbers. All *Listeria* species found in this research are *Listeria monocytogenes*. This research also proves that PRS genes can be used as a screening genotype to identify *Listeria* spp. in fresh vegetables.

Key words : fresh vegetables, *Listeria monocytogenes*, PCR multiplex, PRS gene



DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
1. Tujuan umum	4
2. Tujuan khusus.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
1. Manfaat teoritis	5
2. Manfaat aplikatif.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Kajian Teori	6
1. Listeriosis	6
2. <i>Listeria spp.</i>	9

a. Taxonomi <i>Listeria</i>	9
b. Klasifikasi <i>Listeria</i>	10
c. Epidemiologi <i>Listeria</i>	18
d. Penularan pada Manusia	20
e. Diagnosis <i>Listeria</i>	21
B. Kerangka Teori.....	24
C. Kerangka Konsep.....	25
D. Hipotesis	25
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	26
A. Jenis Penelitian	26
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	26
C. Populasi Sampel, Teknik Sampling, dan Besar Sampel.....	26
D. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	27
1. Kriteria Inklusi	27
2. Kriteria Eksklusi	27
E. Definisi Operasional.....	28
F. Alat dan Bahan.....	28
G. Prosedur Kerja	29
1. Pembuatan Media.....	29
2. Pengambilan Sampel.....	31
3. Kultur pada Media <i>Buffered Listeria Enrichment Broth</i>	31
4. Kultur pada Media selektif.....	32
5. Pewarnaan Gram.....	32

6. Uji Biokimia (Vitek).....	32
7. Ekstraksi DNA.....	33
8. Identifikasi <i>Listeria spp</i> (<i>Multiplex pcr</i>)	35
9. Elektroforesis	36
H. Alur Penelitian	37
I. Analisa Data.....	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	54
DAFTAR PUSTAKA.....	55

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
2.1 Karakteristik fenotip <i>Listeria Spp</i> berdasarkan tes Biokimia	14
3.1 Primer untuk mendeteksi <i>Listeria spp</i>	28
4.1 Jenis dan kuantitas sayuran.	37
4.2 Prevalensi gen <i>prs Listeria spp.</i> pada sayuran segar.....	38
4.3 Hasil elektroforesis produk PCR gen <i>Imo1030</i>	46

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
2.1 Siklus hidup <i>L.monocytogenes</i> di dalam sel.....	15
2.2 Kerangka Teori.....	24
2.3 Kerangka Konsep.....	25
3.1 Alur Penelitian.....	37
4.1 Hasil kultur sampel menunjukkan koloni bakteri pada media PALCAM tanpa zona halo berwarna hitam.....	40
4.2 Hasil kultur <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644 menunjukkan koloni bakteri pada media PALCAM dengan zona halo berwarna hitam ...	40
4.3 Mikroskopik bakteri dari sampel sayur.....	42
4.4 Mikroskopik bakteri <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644.....	42
4.5 Motilitas <i>L.monocytogenes</i> ATCC 7644 pada media SIM.....	43
4.6 <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644 pada media agar darah.....	44
4.7 Hasil Multipleks PCR gen <i>prs</i> dari sampel sayuran.....	45
4.8 Hasil Multipleks PCR gen <i>Imo1030</i> dari sampel sayuran.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Daftar Bakteri yang dapat Diidentifikasi Vitek 2 GP Card	60
2. Hasil Kultur dan Pewarnaan.....	63
3. Hasil Vitek.....	66
4. Hasil <i>PCR</i>	68
5. Dokumentasi Penelitian.	70

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Listeriosis adalah penyakit bawaan makanan yang disebabkan oleh *Listeria monocytogenes* dan dianggap sebagai masalah kesehatan yang serius, karena keparahan gejala dan tingkat kematian yang tinggi. Baru-baru ini, spesies *Listeria* lain telah dikaitkan dengan penyakit pada manusia dan hewan (Mazza R *et al*, 2015). Kebanyakan kasus *L. monocytogenes* manusia dikaitkan dengan konsumsi makanan siap saji (European Food Safety Authority, 2013). *Listeria monocytogenes* adalah patogen yang ditularkan melalui makanan, didistribusikan secara luas dalam bahan makanan seperti sayuran, buah-buahan, produk susu, dan makanan olahan. Konsumsi bahan makanan mentah yang terkontaminasi dan dimasak setengah matang dapat menyebabkan Listeriosis (Dandapani S., *et al*, 2011).

Listeriosis adalah penyakit yang relatif jarang dengan 0,1 hingga 10 kasus per 1 juta orang per tahun tergantung pada negara dan wilayah di dunia. Meskipun jarang, listeriosis menyerang secara invasif memiliki tingkat kematian yang tinggi 20-30% (WHO, 2018). Meskipun sebagian besar wabah listeriosis manusia dan 85% kasus hewan disebabkan oleh *L. monocytogenes*, beberapa penulis melaporkan kasus infeksi yang disebabkan oleh *Listeria seeligeri*, *Listeria ivanovii* dan *Listeria innocua*

(Johnson *et al*, 2004; Liu *et al*, 2004). Menurut FDA (2018), terdapat sekitar 48 juta kasus *foodborne disease* setiap tahunnya. Penyakit ini terutama menyerang orang lanjut usia, wanita hamil, bayi baru lahir, dan orang dewasa dengan sistem kekebalan yang lemah. Memakan makanan yang terinfeksi *Listeria* tidak langsung membuat tubuh menjadi sakit. Gejala baru muncul sekitar tiga pekan atau hingga 70 hari.

Di Eropa, terdapat 2161 kasus listeriosis dan tercatat sebanyak 210 meninggal pada tahun 2014 (EFSA & ECDC, 2015). Pada tahun 2011, wabah listeriosis terjadi di 28 negara bagian AS, yang disebabkan oleh konsumsi melon yang terkontaminasi, dari 147 orang terinfeksi 33 diantaranya meninggal dunia. Di Australia, sebanyak 4 orang meninggal dunia setelah memakan buah melon yang terkontaminasi *L. monocytogenes* (CNN Indonesia, 2018).

Hasil penelitian Jamali H, *et al* (2013), menunjukkan bahwa dari sampel yang diperiksa, sebesar 17,9% sampel makanan siap santap mengandung bakteri *Listeria spp.* dimana sebesar 11,4% dari hasil tersebut diidentifikasi adalah bakteri *Listeria monocytogenes*.

Meskipun kejadian listeriosis pada manusia di Indonesia belum ditemukan, namun keberadaan *Listeria monocytogenes* pada bahan makanan telah dilaporkan seperti pada susu segar di Sulawesi Selatan (Prahesti K.I., 2017) dan daging ayam segar di Jawa Barat (Sugiri Y.D., *et al*, 2014)

Metode standar untuk menentukan bakteri *Listeria spp.* yang umum dan banyak dilakukan adalah dengan metode kultur yaitu pengayaan di media cair dan selanjutnya isolasi pada media selektif padat (Barocci, *et al.*, 2008), namun metode ini dinilai membutuhkan waktu yang lama dan beberapa media yang digunakan terbilang mahal. Menurut Aznar R. dan Alarcón B. (2003), deteksi *Listeria monocytogenes* dalam sampel makanan juga sulit dilakukan karena jumlah bakteri yang rendah, sehingga metode genotip menggunakan PCR dapat menjadi pilihan diagnosis yang lebih cepat. Gen *prs* yang mengkode protein *putative phosphoribosyl pyrophosphate synthetase* adalah gen yang spesifik untuk *Listeria spp.* (Doumith M, *et al*, 2004)

Tingginya tingkat kematian *Listeria monocytogenes* telah dilaporkan (30%), keberadaan bakteri ini dalam konsumsi makanan adalah masalah kesehatan utama seperti pada daging, susu, ikan, dan produk sayuran (Pesavento G., *et al*, 2010)

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui prevalensi bakteri *Listeria spp.* dan identifikasi secara cepat melalui *screening* gen *prs* dari sayuran segar.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dibuat suatu rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ditemukan bakteri *Listeria spp.* pada sayuran segar di pasar-pasar tradisional Makassar?
2. Apakah pemeriksaan molekular metode PCR menggunakan gen *prs* dapat digunakan sebagai skrining *Listeria spp.* pada sayuran yang dijual di pasar tradisional Makassar?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Listeria spp.* pada sayuran segar yang dijual di kota Makassar

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui hasil deteksi bakteri *Listeria spp.* secara fenotip dengan metode kultur pada sayuran segar.
- b. Untuk mengetahui hasil screening bakteri *Listeria spp.* secara genotip dengan metode molekuler *Multiplex PCR* pada sayuran segar.
- c. Untuk mengetahui prevalensi bakteri *Listeria spp.* pada sayuran segar yang dijual di kota Makassar

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan menambah pengetahuan bagi peneliti sendiri dan peneliti selanjutnya yang akan meneliti lebih jauh tentang bakteri *Listeria spp.* pada sayuran segar.

2. Manfaat Aplikatif

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangsih ilmu pengetahuan dan menambah data mengenai prevalensi penyebaran *L. monocytogenes* pada sayuran segar
- b. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam identifikasi *Listeria spp.* pada sayuran segar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Listeriosis

Listeriosis adalah penyakit bawaan makanan yang disebabkan oleh *Listeria monocytogenes* dan dianggap sebagai masalah kesehatan yang serius, karena keparahan gejala dan tingkat kematian yang tinggi. Baru-baru ini, spesies *Listeria* lain telah dikaitkan dengan penyakit pada manusia dan hewan (Mazza R *et al*, 2015).

L. monocytogenes terdistribusi luas di lingkungan, dapat ditemukan di tanah, silase, pada pembusukan tanaman dan feses ternak (Esteban *et al*, 2009). Ternak atau hewan yang terinfeksi oleh *L. monocytogenes* pada umumnya tidak terlihat sakit namun dapat mengkontaminasi lingkungan sekitarnya, makanan asal ternak seperti daging serta produk ternak lainnya. Bakteri ini juga dapat ditemukan pada bermacam-macam makanan mentah seperti daging yang tidak dimasak, susu mentah, susu pasteurisasi, keju lunak, coklat susu, *hot dog*, sayuran, dan *seafood* (CDC, 2010; Churchill *et al*, 2006). Kontaminasi tersebut dapat terjadi di peternakan, tempat pemotongan ternak, pengolahan produk peternakan, pemrosesan makanan siap santap, pengawetan makanan, penyimpanan maupun selama transportasi (Abdelgadir *et al*, 2009; Esteban *et al.*, 2009).

Manusia dapat terinfeksi akibat mengonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh *L. Monocytogenes* atau kontak dengan hewan/ternak terinfeksi (Churchill *et al*, 2006). Listeriosis pada manusia yang sehat, umumnya hanya menunjukkan gejala yang sangat ringan seperti demam, kelelahan, mual, muntah dan diare. Apabila listeriosis tidak diobati, maka gejala dapat berkembang menjadi meningitis dan bakteremia. Pada wanita hamil dapat mengalami *flu-like syndrome* dengan komplikasi keguguran, bayi yang dilahirkan meninggal atau terjadi meningitis pada bayi yang dikandungnya. Pada anak-anak, orang tua dan orang dewasa dengan sistem kekebalan yang lemah, bakteri dapat menyerang sistem syaraf pusat dan masuk dalam sirkulasi darah, menyebabkan pneumonia. Abses atau lesi pada kulit juga dapat terlihat. Gejala klinis tersebut tergantung pada umur manusia, kondisi kesehatan dan strain bakteri yang menginfeksi (CDC, 2010; Churchill *et al*, 2006)

Tingkat kontaminasi *L. monocytogenes* di Indonesia belum banyak dilaporkan seperti di berbagai negara maju, kemungkinan karena bakteri ini dianggap sebagai bakteri baru sehingga belum banyak diteliti orang (Harsoyo dan Andini, 2002). Namun demikian, Standar Nasional Indonesia (2009) sebenarnya telah menetapkan bahwa produk makanan asal hewan di Indonesia tidak boleh mengandung bakteri *Listeria spp.*

Walaupun listeriosis adalah penyakit yang jarang dilaporkan muncul namun menjadi perhatian ahli mikrobiologi karena *L. monocytogenes* merupakan salah satu penyebab penyakit yang serius dengan tingkat

kematian sekitar 20 – 30%. Bakteri tersebut tersebar luas di alam, tahan terhadap panas, asam, dan garam. Sumber listeriosis yang potensial adalah makanan siap santap seperti produk daging dan susu yang tidak dipasteurisasi.

Meskipun sebagian besar wabah listeriosis manusia dan 85% kasus hewan disebabkan oleh *L. monocytogenes*, beberapa penulis melaporkan kasus infeksi oleh *Listeria seeligeri*, *Listeria ivanovii* dan *Listeria innocua* (Johnson *et al*, 2004; Liu *et al*, 2004).

Kasus infeksi *L. ivanovii* pada manusia jarang terjadi dan terutama terkait dengan pasien yang mengalami gangguan kekebalan. Rocourt *et al.* pada tahun 1986 melaporkan kasus listeriosis manusia oleh *L. seeligeri*, yang menyebabkan meningitis pada pasien yang mengalami gangguan sistem imun. Akhirnya, kasus bakteremia fatal pada pasien berusia 62 tahun, yang disebabkan oleh *L. innocua* dilaporkan pada tahun 2003 (Perrin *et al.*, 2003).

Manifestasi klinis listeriosis yang disebabkan oleh *L. monocytogenes* dan spesies *Listeria* lainnya tidak spesifik. Selain itu, *L. monocytogenes* menunjukkan kesamaan morfologis dan biokimia dengan spesies *Listeria* lainnya (Johnson *et al*, 2004) dan koeksistensi berbagai spesies *Listeria* dalam makanan yang sama telah dilaporkan (Ryu *et al*, 2013).

Oleh karena itu, pengembangan tes diagnostik yang cepat, spesifik dan sensitif, untuk pengendalian penyakit yang efektif diperlukan, untuk membedakan *L. monocytogenes* dari spesies *Listeria* lainnya.

2. *Listeria* spp.

Genus *Listeria* terdiri dari sejumlah spesies termasuk *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. marthii*, *L. grayi* dan *L. rocourtiae*. Hanya dua dari spesies ini, *L. monocytogenes* dan *L. ivanovii*, yang dianggap patogen. *L. monocytogenes* adalah patogen bawaan makanan manusia yang penting dan penyebab utama ketiga kematian akibat makanan karena penyebab mikroba di AS (Scallan *et al.* 2011). Kasus dan wabah penyakit manusia yang disebabkan oleh organisme ini memiliki dampak ekonomi yang cukup besar bagi masyarakat dan industri makanan (Ivanek *et al.* 2004). Deteksi spesies *Listeria* sering digunakan oleh industri makanan sebagai penanda untuk mendeteksi kondisi yang memungkinkan keberadaan, pertumbuhan, dan persistensi *L. monocytogenes*. Oleh karena itu, identifikasi spesies *Listeria* baru dan perubahan taksonomi *Listeria* dapat berdampak besar pada industri makanan dan produsen alat uji.

a. Taksonomi *Listeria*

Listeria pertama kali dideskripsikan secara lengkap pada tahun 1926 setelah terjadi infeksi spontan pada kelinci dan babi di laboratorium. Pada awalnya organisme yang diisolasi dari kasus tersebut diberi nama *Bacterium monocytogenes* karena infeksi yang terjadi menunjukkan gejala khas berupa monositosis. Kemudian, seorang peneliti bernama Pirie berhasil mengisolasi bakteri yang serupa dari hati seekor *gerbille* (sejenis hewan percobaan di laboratorium) yang terinfeksi dan diberi nama

Listerella hepatolytica. Pada tahun 1940, Pirie lalu mengusulkan nama umum untuk bakteri tersebut adalah *Listeria*. Nama bakteri tersebut dipilih sebagai penghargaan kepada seorang ahli bedah dan antiseptis terkenal di Inggris bernama Lord Lister.

Genus *Listeria* merupakan bakteri gram positif, fakultatif anaerob, tidak berspora dengan kandungan G+C yang rendah. Genus *Listeria* terdiri dari sejumlah spesies termasuk *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii* serta 2 spesies yang baru diidentifikasi yang pertama kali dilaporkan pada tahun 2009 yaitu *L. marthii*, *L. rocourtiae* (Graves *et al*, 2010).

Taksonomi *Listeria* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Firmicutes
 Classis : Bacilli
 Ordo : Bacillales
 Familia : Listeriaceae
 Genus : *Listeria*
 Species : *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. Ivanovii*, *L. marthii*, *L. grayi* dan *L. Rocourtiae*.

b. Klasifikasi *Listeria*

Spesies dalam genus *Listeria* dibagi menjadi dua kelompok : (1) *Listeria sensu strictu*, spesies yang termasuk adalah *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, dan *L. innocua* (Chiara *et al*. 2015),

dan (2) kelompok *Listeria* sensu lato, yaitu *L. grayi*. Pemisahan menjadi dua kelompok ini didasarkan pada keterkaitan spesies dengan *L. monocytogenes*, yang keduanya merupakan spesies *Listeria* yang pertama kali diklasifikasikan dan merupakan spesies yang paling penting dalam hal kesehatan masyarakat.

1) *Listeria* sensu strictu

Listeria sensu strictu termasuk *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, dan *L. innocua*. Spesies *Listeria* sensu strictu membentuk kelompok monofiletik yang ketat dalam genus *Listeria*. Kecuali untuk *L. monocytogenes* dan *L. innocua*, semua spesies dalam kelompok ini dinamai berdasarkan nama para peneliti yang telah memainkan peran penting dalam studi *Listeria*.

a) Distribusi

Sebagian besar spesies dalam *Listeria* sensu strictu terdokumentasi dengan baik dan terdistribusi secara luas dan umumnya ditemukan di lingkungan yang berbeda. *L. monocytogenes* telah diisolasi di seluruh dunia. Spesies *L. ivanovii* adalah salah satu spesies *Listeria* sensu strictu yang paling jarang diisolasi, ini juga bisa disebabkan oleh kurangnya penemuan spesies ini dalam media pengayaan dan protokol isolasi yang biasanya telah dioptimalkan untuk penemuan *L. monocytogenes*.

Secara umum, tidak ada indikasi yang jelas bahwa spesies *Listeria* sensu strictu yang berbeda lebih sering ditemukan di lingkungan tertentu, meskipun studi individu telah mengidentifikasi hubungan statistik antara

lingkungan yang berbeda dan isolasi spesies *Listeria* tertentu. Sebagai contoh, sebuah penelitian di negara bagian New York (AS) melaporkan bahwa *L. seeligeri* dan *L. welshimeri* secara signifikan terkait dengan lingkungan alam ($P < 0,0001$), sedangkan *L. innocua* dan *L. monocytogenes* secara signifikan terkait dengan lingkungan perkotaan ($P < 0,0001$) (Sauders *et al.* 2012)

b) Karakteristik

Genom *Listeria* sensu strictu memiliki banyak karakteristik. Konten G + C bervariasi dari 34,6 hingga 41,6%; ukuran genom bervariasi dari 2,8 hingga 3,2 Mb, dan genom *Listeria* sangat identik (mis., urutan gen sangat dikonservasi lintas spesies yang berbeda) (den Bakker *et al.* 2010). Pan-genome *Listeria* sensu strictu telah diperkirakan sekitar 6500 gen, 17% di antaranya terlibat dalam nukleobase, nukleotida, nukleosida, dan metabolisme asam nukleat, 14% di antaranya terlibat dalam metabolisme makromolekul seluler, dan 10% di antaranya adalah terlibat dalam proses metabolisme protein (den Bakker *et al.* 2010)

Spesies *Listeria* sensu strictu memiliki banyak karakteristik fenotip, ini membuat isolat dari kelompok ini mudah dikenali sebagai anggota genus *Listeria* (Tabel 2.1). Karakteristik fenotipik utama yang dimiliki oleh semua spesies *Listeria* sensu strictu meliputi (i) kemampuan untuk tumbuh pada suhu serendah 4 ° C, (ii) motilitas (setidaknya 30 ° C), (iii) reaksi katalase positif, (iv) ketidakmampuan untuk mengurangi nitrat menjadi nitrit, dan (v) reaksi positif dalam uji Voges-Proskauer, menunjukkan kemampuan untuk

menghasilkan asetoin dari fermentasi glukosa melalui jalur butanadiol. Selain itu, semua spesies sensu strictu mampu memfermentasi D-arabitol, α -metil D-glukosida, cellobiose, D-fruktosa, D-mannose, N-asetilglukosamin, maltosa, dan laktosa, sementara tidak ada spesies yang dapat memfermentasi inositol, L -arabinose, dan D-mannitol (Weller *et al*, 2015).

Tabel 2.1 Karakteristik fenotip *Listeria spp.* berdasarkan tes Biokimia (Nayak DN *et al*, 2015)

Species identified	Biochemical tests					Sugar fermentation pattern				Hemolysis on 5% SBA	CAMP test with <i>S. aureus</i> (S) and <i>R. equi</i> (R)
	C	O	MR	VP	Ni	L-Rh	D-Xy	α Mdm	D-Ma		
<i>L. monocytogenes</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+(S)
<i>L. seeligeri</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. welshimeri</i>	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>L. innocua</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-

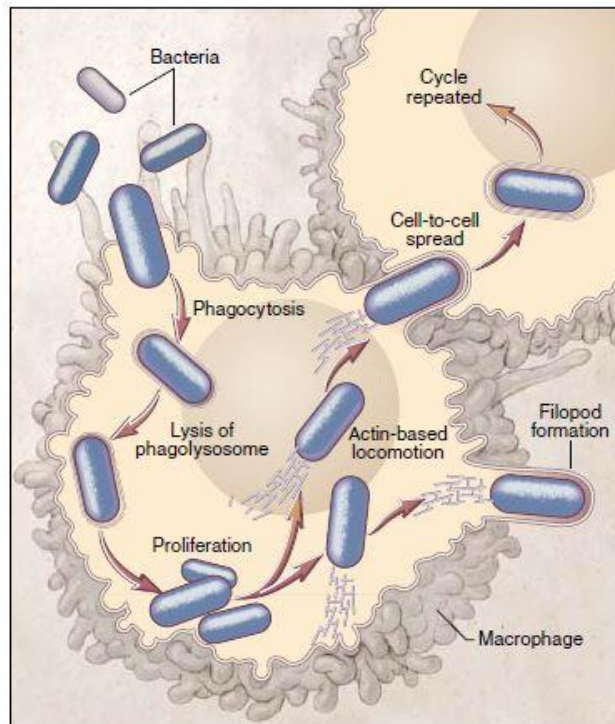
C=Catalase, O=Oxidase, Ni=Nitrate, L-Rh=Rhamnose, D-Xy=Xylose, α Mdm= α -Methyl-d-mannoside, D-Ma=Mannitol, *L. monocytogenes*=*Listeria monocytogenes*, *L. seeligeri*=*Listeria seeligeri*, *L. welshimeri*=*Listeria welshimeri*, *L. innocua*=*Listeria innocua*, SBA=Sheep blood agar, CAMP=Christie Atkins Munch Peterson, MR=Methyl red, VP=Voges Proskauer

Spesies *L. monocytogenes* dan *L. ivanovii*, serta beberapa strain *L. innocua* menunjukkan aktivitas phosphatidylinositol spesifik fosfolipase C (PIPLC), sementara *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, dan *L. seeligeri* serta beberapa strain *L. innocua* menunjukkan kemampuan hemolitik (McLauchlin dan Rees 2009). *L. ivanovii* dapat dibedakan dari *L. monocytogenes* dengan kemampuannya yang unik, di antara spesies sensu strictu, untuk memfermentasi Dribose (Weller *et al*. 2015). *L. seeligeri* adalah satu-satunya spesies sensu strictu yang mampu memfermentasi D-xylose tetapi tidak mampu memfermentasi D-ribosa

atau D-tagatose (Weller *et al.* 2015). Sementara *L. innocua* biasanya diidentifikasi oleh ketidakmampuannya untuk menyebabkan hemolisis dan fermentasi Dxylose dikombinasikan dengan kemampuannya untuk memfermentasi gliserol (Weller *et al.* 2015), strain hemolytic *L. innocua* sulit dibedakan dari *L. monocytogenes* dan *L. seeligeri* berdasarkan pada tes biokimia standar (Johnson *et al.* 2004).

c) Virulensi

L. monocytogenes adalah patogen intraseluler fakultatif yang menyebabkan penyakit manusia yang jarang namun parah. Gejala khas termasuk septikemia, aborsi, dan ensefalitis (McLauchlin and Rees 2009). Selain itu, beberapa contoh telah dilaporkan di mana infeksi *L. monocytogenes* pada manusia telah menyebabkan penyakit gastrointestinal tanpa infeksi sistemik (Frye DM *et al.* 2002). Listeriosis manusia hampir selalu disebabkan oleh paparan *L. monocytogenes* bawaan makanan (Scallan *et al.* 2011). Selain penyakit manusia, *L. monocytogenes* juga telah dilaporkan menyebabkan penyakit invasif pada > 40 spesies hewan.



(Gambar 2.1 Siklus hidup *L.monocytogenes* di dalam sel)

Patogenesis *L. monocytogenes* ditentukan oleh banyak faktor virulensi (Wu S, *et al*, 2016), seperti internalins (*inIA*, *inIB*), listeriolysin O (*hlyA*), actin (*actA*), fosfatidylinositol fosfolipase C (PI-PLC, *plcA*), *lap* (protein terkait), dan regulator virulensi (*prfA*) (Soni DK *et al*, 2014)

Bakteri *L. monocytogenes* menjadi virulen setelah tertelan oleh ternak atau manusia. Virulensi tersebut dipengaruhi oleh adanya aktivasi protein PrfA (*positive regulator of transcription of the virulence genes*) yang mengatur ekspresi gen virulensi. Di luar tubuh *hospes*, pengaturan virulensi bakteri oleh PrfA ada dalam kondisi aktivitas yang rendah. Di dalam tubuh *hospes*, PrfA menjadi aktif dan mampu menginduksi

beberapa ekspresi gen yang diperlukan oleh bakteri untuk masuk ke dalam sel *hospes* (Freitag *et al*, 2009).

L. ivanovii juga dianggap sebagai patogen tetapi sebagian besar terkait dengan penyakit hewan dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa *L. ivanovii* secara dominan menginfeksi domba, tetapi isolasi *L. ivanovii* dari sapi dan manusia sering terjadi, dengan gejala yang konsisten dengan listeriosis menunjukkan bahwa organisme ini juga dapat menyebabkan penyakit pada hewan lain (Snapir *et al.* 2006). Dalam kebanyakan kasus manusia, *L. ivanovii* diisolasi dari darah pasien, tanpa bukti yang jelas tentang rute penularannya. Namun, setidaknya dalam satu kasus, kondisi septikemia didahului oleh penyakit pencernaan yang menunjukkan bahwa strain tersebut didapat secara oral (Guillet *et al.* 2010).

L. innocua awalnya dianggap non-patogen dan non-hemolitik. Namun penelitian terbaru telah mengidentifikasi sejumlah isolat *L. innocua* hemolitik. Menariknya, beberapa *L. innocua* hemolitik (misalnya, FSL J1-023) telah terbukti menyerang sel-sel Caco-2 (manusia) pada tingkat yang sama dengan *L. monocytogenes* (den Bakker *et al.* 2010). Strain *L. innocua* yang membawa LiPI-3, juga telah ditemukan dan terbukti bersifat hemolitik. Sekuensing genom keseluruhan telah mengkonfirmasi bahwa strain *L. innocua* hemolitik mengandung *prfA*, khususnya isolat hemolitik FSL J1-023 ditemukan mengandung patogenitas *Listeria Island 1* (LiPI-1)

yang menunjukkan tingkat homologi yang tinggi dengan patogenisitas *L. monocytogenes* Island 1 (den Bakker *et al.* 2010).

Sebuah studi fungsional (Stelling *et al.* 2010) pada gen virulensi *L. seeligeri* yang dipilih menunjukkan bahwa regulasi ekspresi *prfA* berbeda antara *L. monocytogenes* dan *L. seeligeri*. Masih harus ditentukan apakah *L. seeligeri* bersifat patogenik secara spesifik, meskipun isolasi dari manusia dengan gejala penyakit jarang, tidak ada bukti bahwa *L. seeligeri* harus dianggap sebagai patogen atau menghadirkan risiko kesehatan manusia yang sebanding dengan *L. monocytogenes*.

Isolat *L. welshimeri* yang dicirikan sampai saat ini adalah non-hemolitik. Tidak ada satu pun dari (beberapa) gen *L. welshimeri* yang diurutkan sejauh ini mengandung patogenitas *Listeria* Island 1 (kelompok *prfA*), yang lebih jauh mendukung bahwa anggota spesies ini adalah nonpatogenik.

2) *Listeria* sensu lato

Listeria sensu lato terdiri dari *L. grayi* (pertama kali dijelaskan pada tahun 1966). Secara filogenetik, *L. grayi* erat kaitannya dengan spesies *Listeria* sensu strictu.

a) Distribusi

L. grayi telah diisolasi dari beberapa benua, termasuk Eropa, Asia, Afrika, Amerika Selatan, dan Amerika Utara, berasal dari ikan air tawar dan tempat pemotongan hewan, menunjukkan bahwa spesies ini telah terdistribusi secara global.

b) Karakteristik

Seperti spesies *Listeria* sensu strictu, fenotip spesies sensu lato adalah katalase positif, non-spora, non-kapsul, dan berbentuk batang. Spesies *Listeria* sensu lato menyajikan beberapa karakteristik fenotipik yang membedakannya dari spesies *Listeria* sensu strictu diantaranya adalah tidak bersifat patogen, dan mampu memfermentasikan Dmannitol (Weller *et al.* 2015).

Seperti yang diharapkan berdasarkan pada data fenotipik, analisis genom menunjukkan bahwa spesies *Listeria* sensu lato tidak memiliki patogenitas *Listeria Island 1*, yang meliputi gen virulensi utama *prfA*, *plcA*, *hly*, *mpl*, *actA*, *plcB*, atau patogenisitas *Listeria Island 2*, yang termasuk *inlA* dan *inlB*. (Chiara *et al.* 2015).

c. Epidemiologi *Listeria*

Listeria monocytogenes tersebar luas di alam dan dapat ditemukan pada proses pembusukan tumbuh-tumbuhan, pada umumnya hidup di tanah sebagai saprofit tetapi dapat berubah menjadi patogen apabila tertelan oleh hewan atau manusia (Palumbo *et al.*, 2010). Selain terdapat di tanah, bakteri dapat ditemukan di air, silase (pakan ternak yang dibuat dari daun-daun hijau yang diawetkan dengan fermentasi) dan sumber-sumber alami lainnya (Churchill *et al.*, 2006). Sayuran dapat terkontaminasi dari tanah atau pupuk yang mengandung bakteri *L. monocytogenes* (CDC, 2010; Churchill *et al.*, 2006). *L. monocytogenes* mampu hidup pada kondisi ekstrim yaitu kondisi yang biasanya tidak

ramah bagi bakteri lain. Misalnya, *L. monocytogenes* dapat bertahan pada kisaran pH (4,5-9,2), suhu (0-45 °C) dan konsentrasi garam (sampai 10% NaCl).

Terdapat 2206 kasus listeriosis manusia di Eropa dan tercatat 270 meninggal pada tahun 2015 (EFSA & ECDC, 2016). Di Amerika Serikat sekitar 1.600 kasus *L. monocytogenes* dan menyebabkan 260 kematian per tahun dan menjadi penyebab utama kematian ketiga dari *foodborne disease* (Scallan *et al*, 2011).

Pada tahun 2011, wabah listeriosis terjadi di 28 negara bagian AS, yang disebabkan oleh konsumsi melon yang terkontaminasi, di mana dari total 147 orang terkena dampak 33 diantaranya meninggal dunia. Dalam wabah ini, analisis *L. monocytogenes* menggunakan *pulsed-field gel electrophoresis* (PFGE) sesuai dengan sub tipe koloni *L. monocytogenes* yang diisolasi dari sampel potongan melon dan dari darah pasien. Seorang wanita hamil yang terkena wabah ini mengalami keguguran (CDC, 2016). Pada tahun yang sama, wabah lain yang terkait dengan selada romaine tercatat di 19 negara bagian di Amerika Serikat (Shrivastava S, 2016). Dalam wabah ini, 84 menjadi sakit, 15 meninggal. *Federal Drugs Administration* (FDA) menguji sampel secara acak dari *True Leaf Farms of California*. Hasil analisis mikrobiologis positif untuk *L. monocytogenes*.

Di dalam fasilitas pengolahan makanan, *L. Monocytogenes* ditemukan hampir di semua area (lantai, dinding, dan saluran pembuangan) dan

peralatan seperti mesin pengiris dan pengepakan. Struktur kompleks mesin pengolahan dapat membuat pembersihan mesin sulit dilakukan sehingga untuk mengeliminasi *L. monocytogenes* sulit dihilangkan. Karena faktor inilah membuat *L. monocytogenes* membentuk biofilm di permukaan makanan (Bernbom *et al*, 2011).

f. Penularan pada Manusia

Secara alami *Listeria Spp* dapat ditemukan di lingkungan pertanian seperti tanah, pupuk kandang dan air. Manusia menderita listeriosis setelah mengonsumsi produk pangan yang terkontaminasi oleh bakteri *L. Monocytogenes*. Dalam UU RI No 18 Tahun 2012 tentang Pangan, pangan merupakan kebutuhan dasar manusia yang paling utama dan Negara berkewajiban mewujudkan ketersediaan konsumsi pangan yang aman, bermutu dan bergizi seimbang. Pada hakekatnya pangan untuk kebutuhan manusia harus mempunyai jaminan keamanan untuk mencegahnya dari pencemaran bahaya biologis (berupa bakteri patogenik, parasit, cacing, virus, kapang/cendawan), bahaya kimia (berupa mikotoksin, cemaran logam berat dan residu antibiotika), bahaya fisik (serpihan kaca, potongan kayu, logam, batu, rambut, benang, dll), dan bahaya asing lainnya yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan.

L. monocytogenes umumnya ditemukan dan diisolasi dari daging olahan, makanan siap saji dan produk susu serta susu yang disimpan dingin. Semakin banyak laporan terbaru menunjukkan kontaminasi dan

prevalensi *L. monocytogenes* dalam produk segar. Dari hasil penelitian Nayak DN, *et al* (2015) menunjukkan bahwa dari 200 jenis makanan berasal dari hewan sebagai sampel, 18 (9%) ditemukan positif untuk *Listeria spp.* yang diidentifikasi sebagai *Listeria seeligeri* (6, 33,3%), *Listeria innocua* (5, 27,7%), *Listeria welshimeri* (4, 22,2%), dan *L. monocytogenes* (3, 16,6%). Prevalensi tertinggi diamati pada sampel susu (8). 6 isolat *L. seeligeri* yang termasuk masing-masing 2 dari susu sapi, susu kerbau, dan sampel daging; 5 *L. innocua* isolat termasuk 4 temuan dari ikan dan 1 dari sampel daging; 4 *L. welshimeri* terdiri dari 2 isolat dari es krim dan masing-masing 1 dari sampel susu kerbau dan daging; dan 3 isolat *L. monocytogenes* dari susu (1 sapi dan 2 susu kerbau). Penelitian ini menunjukkan kemungkinan risiko mengonsumsi produk susu, daging, dan bahan makanan siap saji yang tersedia di pasar dan juga perlu diperhatikan proses penyimpanan yang efektif dan efisien untuk menjaga makanan tersebut agar tetap aman.

g. Diagnosis *Listeria*

Diagnosis penyakit ditegakkan melalui isolasi dan identifikasi bakteri penyebab penyakit. Spesimen untuk isolasi bakteri dapat menggunakan feses, cairan serebro-spinal atau darah (saat terjadi septikemia). Listeriosis biasanya didiagnosis melalui jaringan tubuh atau cairan, seperti darah, cairan tulang belakang, atau plasenta. Sampai saat ini, telah banyak dikembangkan metode untuk mendeteksi keberadaan *Listeria*

dalam makanan, terutama bakteri *L. monocytogenes*, baik secara konvensional, deteksi cepat, serologi maupun secara molekuler.

1) Metode deteksi secara konvensional

Pada awalnya, metode yang dikembangkan untuk mendeteksi bakteri *L. monocytogenes* dalam sampel makanan dilakukan secara konvensional yaitu dengan teknik isolasi dan identifikasi untuk menentukan agen penyebab utama. Ada beberapa metode konvensional standar untuk isolasi *Listeria* spp. yaitu metode yang ditetapkan oleh FDA (*Food and Drug Administration*), AOAC (*Association of Official Analytical Chemist*), standar ISO 11290, standar *French* dan *USDA-FSIS* (*US Departement of Agriculture-Food Safety and Inspection Service*).

Pada umumnya, metode konvensional tersebut harus melalui beberapa tahap yaitu pemupukan pada larutan pra-pengayaan selektif *Listeria* spp., larutan pengayaan selektif *Listeria* dan *plating* pada media agar selektif *Listeria* spp. Pada media selektif *Listeria* spp. tersebut dilengkapi dengan inhibitor selektif untuk menghambat pertumbuhan kontaminan. Biasanya dengan penambahan beberapa antibiotika antara lain *Acriflavin HCl*, *Cycloheximide*, *Nalidixic acid*, *Lithium chloride*, *Polymixin B-Sulfat*, *Ceftazidime* dan *Fosfomisin*. Dugaan terhadap bakteri yang tumbuh pada media agar selektif *Listeria* spp. berupa bentuk koloni yang kecil, bulat, halus dan adanya zona hitam di sekeliling koloni bakteri karena terdapat degradasi aeskulin, dengan pewarnaan Gram menunjukkan warna ungu (Gram positif), berbentuk batang. Hasil tersebut

dikonfirmasi dengan melakukan identifikasi secara fisik maupun biokemik melalui uji aktivitas hemolitik/*Christie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP) test*, fermentasi gula-gula (rhamnose, xylose, glukosa, maltosa, manitol), hidrolisis aeskulin, reduksi nitrat dan uji serologis. Walaupun dengan metode ini bakteri *Listeria spp.* dapat berhasil diidentifikasi, namun metode ini memiliki kelemahan yaitu memerlukan waktu yang lama (lebih dari 1 minggu), beberapa media selektif yang mahal dan peralatan yang banyak (Ariyati T, 2010).

2) Metode Deteksi Secara Molekuler

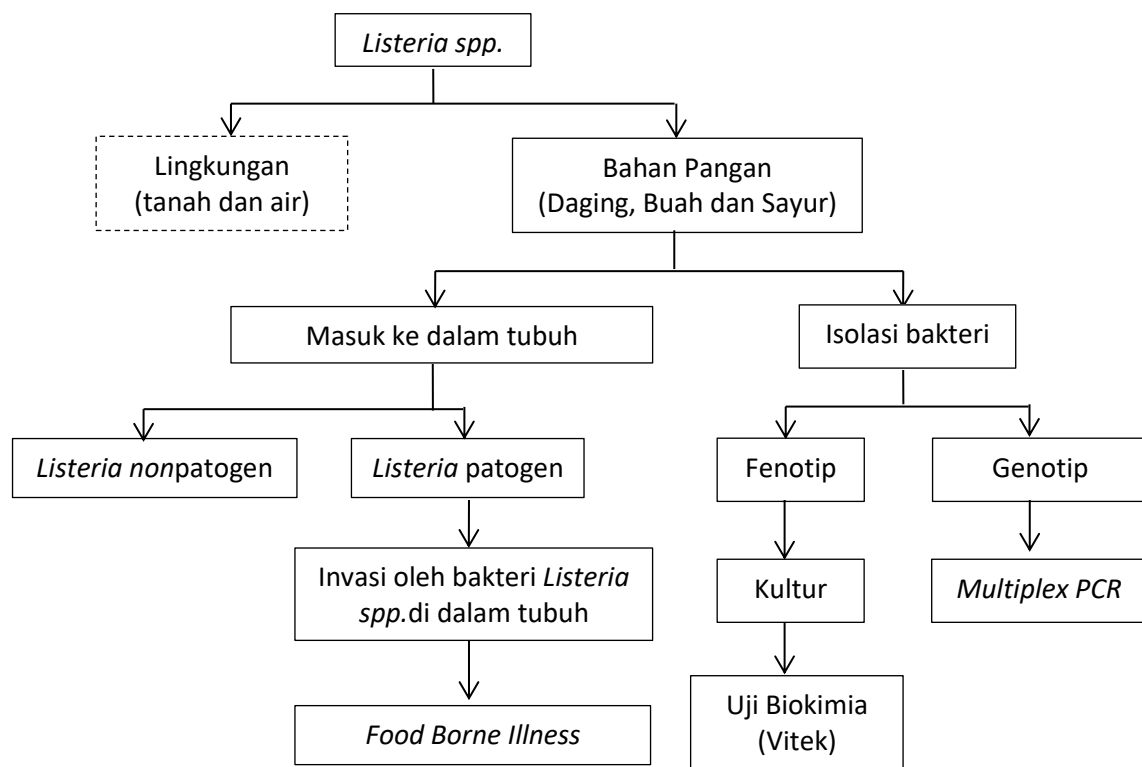
Pada industri makanan, sangat diperlukan metode deteksi cepat terhadap keberadaan bakteri *L. monocytogenes* dalam makanan, karena sampel makanan tidak dapat disimpan lama. Metode deteksi cepat dipilih yang mempunyai kriteria sederhana, sensitif (dapat mendeteksi dengan level 1 sel/gram makanan), bersifat spesifik terhadap 6 spesies *Listeria spp.*, akurat, cepat (dapat memberi hasil kurang dari 1 hari) dan tidak mahal.

Metode deteksi secara molekuler saat ini sudah banyak dikembangkan. Metode ini lebih sensitif daripada metode konvensional. Beberapa metode deteksi secara molekuler yang telah dikembangkan untuk verifikasi lebih lanjut setelah sampel makanan diduga terkontaminasi *L. monocytogenes* adalah *polymerase chain reaction (PCR)*, *Competitive PCR*, *PCR dengan DNA probe*, *Real Time PCR*, *Multiplex PCR*, *DNA Microarray*, *Restriction fragment length polymorphism*

(RFLP), *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD), dan *amplified fragment length polymorphism* (AFLP).

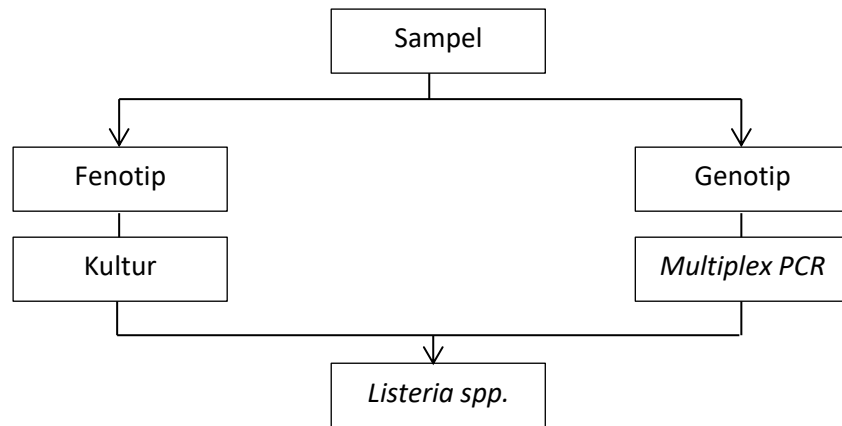
Pada umumnya, metode ini tidak digunakan secara rutin untuk *screening* penyakit namun merupakan metode untuk melakukan karakterisasi patogen lebih lanjut setelah patogen tersebut terisolasi dari sampel makanan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, akan melakukan perbandingan metode kultur dengan metode molekuler.

B. Kerangka Teori



(Gambar 2.2 Kerangka Teori)

C. Kerangka Konsep



(Gambar 2.3 Kerangka Konsep)

D. Hipotesis

Adapun hipotesis dalam penelitian ini yaitu ditemukan bakteri *Listeria spp.* pada sampel bahan makanan dengan metode kultur dan multipleks *PCR*.