

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Makanan merupakan sumber kebutuhan utama yang diperlukan umat manusia dalam aktivitas sehari-hari. Namun, makanan yang tidak diolah dengan baik dapat menimbulkan berbagai macam penyakit. Penyakit bawaan makanan atau yang biasa dikenal dengan FBD (*Foodborne Diseases*) umumnya bersifat toksik dan infeksius yang dapat terjadi melalui konsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri, virus, parasit atau zat kimia yang dapat menyebabkan penyakit parah hingga kematian (Hui et al., 2001).

Kontaminasi dari makanan dan air menjadi penyebab kematian sekitar 2 juta orang setiap tahunnya (Day *et al.*, 2015). Di negara Amerika, tahun 2015-2018 tercatat 25.606 kasus infeksi keracunan pangan, 5.893 pasien rawat inap dan 120 orang meninggal (Tack *et al.*, 2019). Di Afrika dalam kurun waktu 2013-2017 tercatat 11.155 orang penderita keracunan pangan, 8.680 orang dirawat inap dan 49 orang meninggal (Shonhiwa *et al.*, 2019). Di Indonesia pada tahun 2017, berdasarkan data dari Direktorat Kesehatan Lingkungan dan *Public Health Emergency Operation Center* (PHEOC) Kementerian Kesehatan (Kemenkes) mencatat KLB keracunan pangan terjadi sebanyak 163 kejadian, 7132 kasus dengan *Case Fatality Rate* (CFR) 0,1% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018) yang disebabkan oleh beberapa faktor.

Keracunan pangan umumnya disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya cara memasak yang tidak benar, bahan makanan yang sudah terkontaminasi silang dan penyimpanan makanan yang tidak benar sehingga makanan mudah terkontaminasi oleh bakteri, virus dan parasit (Wu et al., 2018).

Listeria monocytogenes merupakan salah satu bakteri penyebab keracunan pangan atau *foodborne pathogen*. Di Afrika Selatan, tercatat 1060 kasus Listeriosis dalam jangka waktu 1 Januari 2017 sampai 17 Juli 2018, sehingga WHO menyatakan sebagai kejadian Listeriosis terbesar di

dunia (Smith *et al.*, 2019). Tahun 2006-2015 di Inggris dilaporkan sebanyak 1683 kasus yang disebabkan oleh *Listeria monocytogenes* dan 390 orang diantaranya dinyatakan meninggal (Scobie *et al.*, 2019). *Listeria monocytogenes* dapat masuk ke dalam tubuh melalui makanan dan susu yang terkontaminasi (Hanson *et al.*, 2019). Bulan Maret hingga Juni 2020 dilaporkan kejadian Listeriosis yang disebabkan oleh bakteri *Listeria monocytogenes* berasal dari Jamur Enoki produk Korea menyebabkan KLB di Amerika tercatat 36 terinfeksi *Listeria monocytogenes* di 17 negara bagian dan 4 orang dilaporkan meninggal dari California, Hawaii dan New Jersey, serta 6 kasus masalah kehamilan dan 2 kasus menyebabkan keguguran (CDC, 2020). Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Listeria monocytogenes* sering disebut dengan Listeriosis yang umumnya menyerang ibu hamil, orang tua dan menyebabkan penyakit meningitis (Pohl *et al.*, 2019).

Bakteri *Listeria monocytogenes* adalah bakteri gram positif berbentuk batang dengan motil *flagella* dan bersifat fakultatif anaerob (Coelho *et al.*, 2019). Banyak ditemukan pada produk susu, daging, unggas, makanan laut dan makanan siap saji (Gurresch *et al.*, 2016) serta ditemukan juga pada Jamur Enoki produk Korea (CDC, 2020). Oleh karena itu diperlukan suatu metode deteksi cepat untuk mendeteksi bakteri *foodborne pathogen*.

Metode deteksi cepat sebelumnya menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) konvensional yaitu teknik amplifikasi DNA secara *in vitro*. Teknik PCR digunakan untuk mengamplifikasi DNA dalam hitungan jam. Proses PCR memerlukan beberapa komponen utama, yaitu DNA *Template*, Oligonukleotida *primer*, Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), Enzim DNA Polimerase. PCR menggunakan alat Termosiklus yaitu sebuah mesin yang memiliki kemampuan untuk memanaskan sekaligus mendinginkan tabung reaksi dan mengatur temperatur untuk tiap tahapan reaksi. Terdapat tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat yaitu denaturasi, *annealing* dan pemanjangan untai DNA. Produk PCR dapat diidentifikasi melalui

ukurannya dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa (Elliwati Hasibuan, 2015).

Telah dilakukan penelitian dengan metode PCR konvensional untuk mendeteksi bakteri *Listeria monocytogenes* dan dibuktikan bahwa gen *hly* *Listeria monocytogenes* dengan jumlah ampikon 713 bp yang digunakan sebagai pendeteksi bakteri *Listeria monocytogenes* yang sensitif, spesifik dan cepat (Klein & Juneja, 1997). Namun pada prosesnya, PCR konvensional membutuhkan waktu berjam-jam untuk memperoleh hasil amplifikasinya dan membutuhkan karakterisasi gel agarosa untuk mengamati hasil PCR konvensional.

Menurut Tevfik Dorak, jumlah ampikon yang baik untuk amplifikasi yaitu kurang dari 250 bp atau dengan range 100-250 bp. Dikarenakan jika ampikon terlalu panjang akan menurunkan efisiensi PCR dan memungkinkan terbentuknya mispriming (Tevfik Dorak & Pfaffl, 2007).

Penelitian ini dibawah payung penelitian Tim Salmonella UNJ akan menggunakan metode *Real-Time* PCR dalam mendeteksi bakteri *Listeria monocytogenes* secara cepat, sensitif dan akurat (Wei *et al.*, 2019). *Real-Time* PCR membutuhkan waktu yang singkat dalam mendeteksi makanan yang terkontaminasi dan hasil amplifikasi diperoleh saat itu juga atau *real-time* (Kim *et al.*, 2019).

Hasil yang sensitif dan spesifik ditunjukkan oleh *Real-Time* PCR, sehingga efisien dalam waktu dan praktis dalam penggunaannya. Penelitian ini diharapkan dapat menunjang penelitian sebelumnya dan dikembangkan alat deteksi yang bersifat cepat, akurat, spesifik dan sensitif terhadap bakteri *Listeria monocytogenes*.

B. Perumusan Masalah

Ditinjau dari latar belakang yang disampaikan, dapat dirumuskan masalah yang terdapat dalam penelitian ini adalah “Bagaimana tingkat pengujian sensitifitas dan spesifisitas primer gen *hly* dalam mendeteksi bakteri *Listeria monocytogenes* secara cepat dalam sampel pangan dengan metode *Real-Time* PCR?”

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi sensitifitas dan spesifisitas primer *hly* dalam mendeteksi bakteri *Listeria monocytogenes* pada sampel susu, daging sapi dan jamur enoki produk impor menggunakan metode *Real-Time* PCR secara cepat, akurat dan sensitif.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari hasil penelitian ini diharapkan memperoleh informasi besarnya sensitifitas dan spesifitas primer dari gen *hly* yang terdapat pada *Listeria monocytogenes* sebagai metode deketsi cepat dan akurat. Penelitian ini juga dapat digunakan sebagai sumber informasi dalam hal pemanfaatan *Real-Time* PCR sebagai metode deteksi keracunan pangan yang lebih spesifik, akurat dan cepat serta lebih baik dari metode sebelumnya.