

## **PREVALENSI DAN TINGKAT KONTAMINASI *Listeria monocytogenes* DI TAMBAK DAN UNIT PENGOLAHAN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) UNTUK PASAR EKSPOR**

### ***Prevalence and Contamination Level of Listeria monocytogenes in Culture and Processing Plant of Shrimp (Litopenaeus vannamei) for Export Market***

**Yusma Yennie\* , Gunawan, dan Farida Aryani**

Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan,  
Jl. KS Tubun, Petamburan VI, Jakarta Pusat, DKI Jakarta, 10260, Indonesia

\*Korespondensi penulis : yenni.yusma@gmail.com

Diterima: 8 Oktober 2020; Direvisi: 21 Mei 2021 ; Disetujui: 19 Oktober 2021

#### **ABSTRAK**

*Listeria monocytogenes* adalah salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit bawaan pangan. Penolakan ekspor produk udang beku Indonesia karena kontaminasi *L. monocytogenes* masih terjadi yang berdampak pada kerugian material bagi pelaku usaha. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui prevalensi dan tingkat kontaminasi *L. monocytogenes* pada produk udang beku untuk pasar ekspor. Sampel yang diambil merupakan udang segar dari tambak dan bahan baku dari bagian penerimaan di Unit Pengolahan Ikan (UPI) serta udang beku sebagai produk akhir UPI, dengan menerapkan sistem ketertelusuran. Lokasi penelitian adalah Sumatra Utara (Medan), DKI Jakarta, Jawa Timur (Surabaya dan Banyuwangi), dan Sulawesi Selatan (Makassar). Identifikasi dan enumerasi *L. monocytogenes* dilakukan dengan metode MPN-PCR dengan target gen *hlyA* (~456bp). Prevalensi *L. monocytogenes* pada udang vaname secara keseluruhan sebesar 6,7% (9/135 sampel), dengan prevalensi di masing-masing titik pengambil sampel berturut-turut 6,1% di tambak, 9,6% di bahan baku, dan 4% di produk akhir, yang merupakan sampel udang dari *batch* yang sama. Tingkat kontaminasi *L. monocytogenes* pada sampel udang vaname berkisar 6,1-1.100 APM/g. Persyaratan *L. monocytogenes* pada bahan pangan adalah negatif/25g, sehingga sampel udang yang terkontaminasi *L. monocytogenes* tersebut tidak memenuhi persyaratan sebagai pangan yang aman untuk dikonsumsi berdasarkan regulasi yang berlaku di Indonesia maupun di negara lain. Kontaminasi *L. monocytogenes* pada udang beku kemungkinan berasal dari tambak ataupun lingkungan pengolahan. Penerapan *Good Aquaculture Practices* (GAP) di lingkungan tambak udang, serta *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP) dan *Good Manufacturing Practices* (GMP) di UPI perlu dilakukan dengan benar sebagai upaya pengendalian kontaminasi *L. monocytogenes*. Selain itu, perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai sumber dan titik kritis kontaminasi *L. monocytogenes* di sepanjang rantai pengolahan udang beku mulai dari tambak sampai produk akhir.

**KATA KUNCI:** *Listeria monocytogenes*, udang vaname, prevalensi, tambak, unit pengolahan ikan

#### **ABSTRACT**

*Listeria monocytogenes* is pathogenic bacteria that can cause foodborne illness. Rejection of frozen shrimp exports due to *L. monocytogenes* contamination still occurs and causes economical losses for the industries. The objective of this study was to determine the prevalence and the level of *L. monocytogenes* contamination in frozen shrimp for export markets. Samples collected were fresh shrimp from shrimp culture and raw material from the receiving point of fish processing plants (UPI), and frozen shrimp as the end product, by implementing a traceability system. Study locations were in North Sumatra (Medan), Special Capital Region of Jakarta, East Java (Surabaya dan Banyuwangi), and South Sulawesi (Makassar). Identification and enumeration of *L. monocytogenes* were carried out using the MPN-PCR method with the target gene *hlyA* (~456bp). The prevalence of *L. monocytogenes* in vanname shrimp was 6.7% (9 out of 135 samples), where 6.1%, 9.6%, and 4% of the prevalence were found in samples from shrimp culture, raw material, and end product, respectively. These samples were from the same batch. The contamination level ranged from 6.1 to 1,100 MPN/g. *L. monocytogenes* in food should be negative/25g, thus the contaminated samples do not meet requirements as safe for human consumption based on food

regulation in Indonesia and other countries. Findings from this study suggested that shrimp culture or fish processing environment are potential sources of *L. monocytogenes* contamination in frozen shrimp. Therefore, the implementation of Good Aquaculture Practices (GAP) in shrimp culture environment, as well as Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) and Good Manufacturing Practices (GMP) in shrimp processing plant are necessary to control *L. monocytogenes* contamination. Further studies regarding the sources and critical points of *L. monocytogenes* contamination throughout the processing of frozen shrimp from shrimp culture to end product are also needed.

**KEYWORDS:** *Listeria monocytogenes*, vanname shrimp, prevalence, shrimp culture, fish processing plant

## PENDAHULUAN

*Listeria monocytogenes* merupakan bakteri patogen penyebab penyakit bawaan pangan yang dapat ditemukan pada udang, karena merupakan bakteri yang hidup di lingkungan perairan laut dan estuari yang merupakan habitat udang (Gram, 2001; Zhu, Du, Cordray, & Ahn, 2005). Bakteri ini memiliki karakteristik dapat beradaptasi di lingkungan yang memiliki suhu, pH, ataupun aktivitas air ( $a_w$ ) yang rendah (Gandhi & Chikindas, 2007). *L. monocytogenes* umum ditemukan di dalam pangan siap saji, terutama pangan mentah atau pangan dengan proses pengolahan minimal seperti sushi, ikan yang menggunakan pengasapan dingin (*cold-smoked fish*) serta produk yang mengalami penyimpanan dalam jangka waktu lama sebelum dikonsumsi (Beaufort et al. 2007; Calo-Mata et al. 2008; Ghanbari, Jami, Domig, & Kneifel, 2013). Kontaminasi *L. monocytogenes* di produk pangan dapat mengakibatkan listeriosis, yaitu gangguan kesehatan seperti gastroenteritis, demam, keguguran pada ibu hamil, septisemia, pneumonia, meningitis, dan lainnya (Franciosa, Tartaro, Wedell-Neergaard, & Aureli, 2001; Sotgiu et al. 2019). Kasus listeriosis jarang terjadi namun memiliki tingkat kematian yang tinggi, yaitu 20-30% (Esteban, Oporto, Aduriz, Juste & Hurtado, 2009; Palumbo, Iannacone, Porta, & Capparelli, 2010).

Keberadaan *L. monocytogenes* pada produk perikanan seperti udang beku dipengaruhi oleh faktor lingkungan, musim, proses penanganan, pengolahan, sampai dengan penyimpanan produk sebelum dikonsumsi (Gambarin et al., 2012; Jami, Ghanbari, Zunabovic, Domig, & Kneifel, 2014). Kontaminasi di unit pengolahan memiliki pola tertentu, walaupun menggunakan bahan baku yang sama (Lappi, Ho, Gall, & Wiedmann, 2004; Thimothe, Nightingale, Gall, Scott, & Wiedmann, 2004). Prevalensi *L. monocytogenes* pada produk udang telah banyak dilaporkan di berbagai negara, dengan angka berkisar 1,5-28,8% (Beleneva 2011; Fallah, Saei-Dehkordi, & Mahzounieh, 2013; Gawade, Barbuddhe, & Bhosle,

2010; Jami et al., 2014; Wang et al., 2011; Yadollahi, Momtaz, Doudi, & Taj bakhsh, 2013), namun informasi terkait dari Indonesia masih terbatas. Hasil penelitian *L. monocytogenes* pada produk perikanan pernah dilaporkan oleh Yuswita, Nurjanah, dan Rahayu (2016) pada pangan jajanan berbasis ikan di Kota Bogor, dan tidak ditemukan kontaminasi *L. monocytogenes* pada produk tersebut. Keberadaan *L. monocytogenes* juga tidak ditemukan di sampel kerang hijau dan kerang darah segar di wilayah Bogor seperti yang dilaporkan oleh Rahayu, Rinanti, Nurjanah, dan Nurwitri (2016). Hal ini bukan berarti kontaminasi bakteri ini tidak ditemukan, tetapi penelitian terkait masih perlu dilakukan secara komprehensif dan mencakup jenis sampel yang lebih bervariasi.

Pada tahun 2012-2013, Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) melaporkan sebanyak 2 kasus penolakan ekspor komoditas udang ke Amerika Serikat terkait kontaminasi *Listeria* yang menunjukkan masih adanya kontaminasi *L. monocytogenes* pada produk udang beku dari Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prevalensi dan tingkat kontaminasi *L. monocytogenes* di dalam satu alur pengolahan udang beku untuk pasar ekspor yang diperoleh dari tambak, bagian penerimaan, dan pembekuan udang di Unit Pengolahan Ikan (UPI), dengan menerapkan sistem ketertelusuran.

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dalam bentuk segar yang diperoleh dari tambak dan bagian penerimaan bahan baku di UPI, dan udang dalam bentuk beku yang merupakan produk akhir dari UPI. Udang dari tambak adalah udang siap panen yang berumur sekitar 60 hari dengan berat berkisar 20-25 g/ekor (ukuran 40-50

ekor/kg). Sampel udang vaname yang diambil dari tambak, dari bagian penerimaan bahan baku di UPI, dan dari bagian akhir proses pembekuan di UPI merupakan udang yang berasal dari *batch* yang sama. Pengambilan sampel tersebut dilakukan secara tertelusur. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Mei-November 2015 di Sumatra Utara (Medan), DKI Jakarta, Jawa Timur (Surabaya dan Banyuwangi) dan Sulawesi Selatan (Makassar). Penentuan lokasi ini berdasarkan rekomendasi dari BKIPM sebagai wilayah dengan volume produksi dan ekspor terbesar di Indonesia. Wawancara dengan pelaku usaha, yaitu petani tambak, pengepul, dan pihak UPI dilakukan untuk memperoleh informasi tentang rantai pasok pengolahan udang beku mulai dari tambak sebagai asal bahan baku sampai dengan produk akhir di UPI.

Sampel udang segar dari tambak berasal dari 11 tambak (masing-masing 3 tambak di wilayah Surabaya dan Banyuwangi, serta 5 tambak di wilayah Makassar). Pengambilan sampel udang dari tambak di lokasi Medan dan DKI Jakarta tidak dilakukan karena pihak petambak atau pemasok tidak memberikan izin untuk melakukan pengambilan sampel. Pengambilan sampel di bagian penerimaan bahan baku dan produk akhir dilakukan di 17 UPI yang terdiri atas 3 di wilayah Medan, 2 di DKI Jakarta, 4 di Surabaya, 4 di Banyuwangi, dan 4 di Makassar. Total udang yang diperoleh sebanyak 135 sampel yang terdiri atas 33 sampel dari tambak, 52 sampel dari bagian penerimaan di UPI, dan 50 sampel adalah produk akhir di bagian proses pembekuan di UPI.

Pengambilan sampel di tambak, dilakukan dengan 1 kali kunjungan ke lokasi tambak saat pemanenan udang. Sampel diambil di 5 titik di setiap petakan tambak yang dikomposit menjadi 1 unit sampel dengan berat sekitar 500 g. Pengambilan sampel di setiap petakan tambak dilakukan dengan 3 kali ulangan. Untuk sampel bahan baku dari bagian penerimaan dan produk akhir di UPI, diambil secara acak yang dikomposit menjadi 1 unit sampel dengan berat sekitar 500 g. Pengambilan sampel diulang sebanyak 3 kali. Sampel diambil secara aseptis sesuai dengan prosedur pengambilan sampel untuk pengujian mikrobiologi dan disimpan dalam plastik steril secara terpisah dan ditempatkan di dalam *cool box* dan diberi es, kemudian dibekukan dan dibawa ke laboratorium untuk dilakukan identifikasi dan enumerasi *L. monocytogenes*.

### **Isolasi dan Enumerasi *L. monocytogenes***

Isolasi *L. monocytogenes* mengacu pada SNI ISO 11290-1 (SNI ISO, 2012) dengan modifikasi pada tahap konfirmasi dengan metode PCR (Paziak-Domaneska et al., 1999). Sampel udang sebanyak

25 g ditimbang dan ditambahkan ke dalam 225 ml media *half fraser* (Oxoid, England) dan dihomogenisasikan menggunakan *stomacher* 200 rpm selama 1 menit. Homogenat diinkubasi pada suhu  $30\pm1^\circ\text{C}$  selama  $24\pm2$  jam. Homogenat dari media *half fraser* diinokulasikan sebanyak 0,1 ml ke dalam 10ml media *fraser broth* (Oxoid, England) dan diinkubasi pada suhu  $37\pm1^\circ\text{C}$  selama  $48\pm3$  jam. Sampel selanjutnya diinokulasikan pada media agar selektif PALCAM (Oxoid, England), lalu diinkubasi pada  $37\pm1^\circ\text{C}$  selama  $24\pm3$  jam. Koloni tipikal *L. monocytogenes* yang tumbuh di media PALCAM diinokulasikan ke media agar miring *tryptone soy yeast extract* (Oxoid, England) dan diinkubasi pada suhu  $37\pm1^\circ\text{C}$  selama  $24\pm2$  jam, selanjutnya digunakan pada tahap konfirmasi dengan PCR.

Enumerasi *L. monocytogenes* menggunakan metode MPN dengan serial 3 tabung yang diadaptasi dari penelitian Chen, Wu, Zhang, Wu, dan Guo (2015). Enumerasi dilakukan dengan serial pengenceran  $10^{-1}$ - $10^{-3}$ . Sebanyak 1ml homogenat dari media *half fraser* diinokulasikan ke setiap pengenceran yang masing-masing terdiri atas 3 tabung dan dinkubasi pada  $30\pm2^\circ\text{C}$  selama  $24\pm2$  jam. Masing-masing tabung homogenat dipindahkan sebanyak 0,1ml ke dalam tabung yang berisi 10ml media *fraser broth* dan diinkubasi pada  $30\pm2^\circ\text{C}$  selama  $26\pm2$  jam. Tabung yang media *fraser broth*nya berubah menjadi gelap, selanjutnya diinokulasikan ke media agar selektif PALCAM untuk dilakukan konfirmasi dengan metode PCR, sedangkan tabung yang media *fraser broth*nya belum mengalami perubahan, diinkubasi kembali pada suhu  $30\pm2^\circ\text{C}$  selama  $26\pm2$  jam. Perhitungan jumlah bakteri mengacu pada tabel nilai MPN seri 3 tabung yang diadaptasi dari FDA-BAM (Hitchins, 2003).

### **Konfirmasi *L. monocytogenes***

Konfirmasi *L. monocytogenes* diawali dengan tahap ekstraksi DNA genom dari isolat tipikal *L. monocytogenes* menggunakan protokol kit ekstraksi DNA *TIANamp genomic DNA kit* (Tiangen, China). Amplifikasi DNA hasil ekstraksi dilakukan menggunakan target gen *hlyA* (~456bp) dengan pasangan primer adalah *hlyA-F* (5'-GCAGTTGCAAGCGCTTGGAGTGAA-3') dan (5'-GCAACGTATCCTCCAGAGTGATCG-3') untuk *hlyA-R* (Paziak-Domaneska et al., 1999). Gen *hlyA* merupakan gen virulensi, terdapat pada bakteri *L. monocytogenes* patogenik yang mengkode liseteriolisin O (LLO) dan membedakannya dengan jenis *Listeria* lainnya (Aznar & Alarcón, 2003; Jadhav, Bhave & Palombo, 2012).

Reaksi PCR yang digunakan memiliki volume akhir 25  $\mu\text{L}$ , terdiri atas campuran reaktan 12,5  $\mu\text{L}$  *DreamTaq Hot Start Green PCR Master Mix* (*Thermo Scientific*, USA), masing-masing 1  $\mu\text{L}$  primer gen *hlyA*

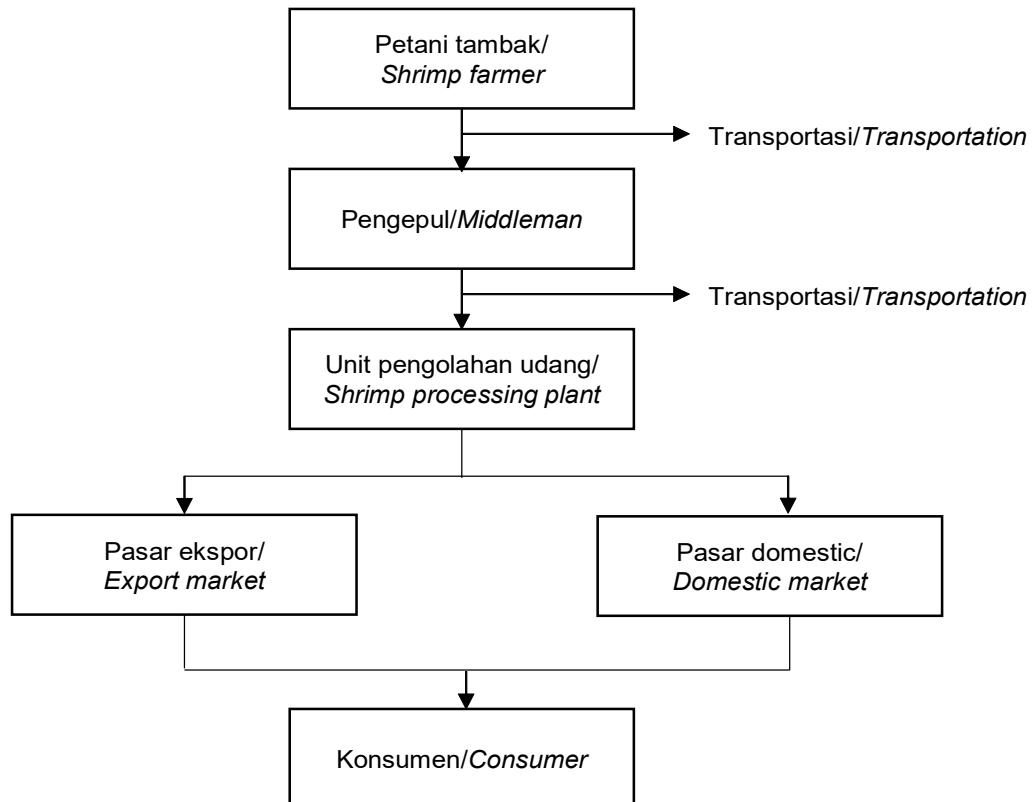
(forward dan reverse), 1  $\mu\text{L}$  DNA sampel, dan 9,5  $\mu\text{L}$  nuclease free water (Thermo Scientific, USA) dengan protokol amplifikasi menggunakan thermal cycler (Biorad, USA) pada kondisi pra denaturasi (95°C, 120 detik), denaturasi (95°C, 15 detik), penempelan primer (60°C, 30 detik), elongasi atau pemanjangan primer (72°C, 90 detik) dan elongasi akhir (72°C, 600 detik) dengan siklus sebanyak 35 kali (Paziak-Domanska et al. 1999). Produk PCR diamati dengan elektroforesis gel (tegangan 100 V; kuat arus 50 mA) menggunakan 1,5% gel agarose dan bufer TBE1X selama 35 menit, selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan SYBR gold nucleic acid gel stain (Invitrogen, USA) dan divisualisasikan dengan UV-transilluminator (Biorad, USA). Konfirmasi *L. monocytogenes* pada sampel udang menggunakan bakteri *L. monocytogenes* ATCC 19114 sebagai kontrol positif dan bakteri *Salmonella enterica* ATCC 13076 sebagai kontrol negatif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil wawancara dengan pihak petani tambak, pengumpul, dan UPI pada penelitian ini, diketahui bahwa rantai pasok pengolahan udang beku mulai dari tambak sampai dengan produk akhir

di UPI seperti yang tersaji di Gambar 1. Rantai dimulai dari pemanenan udang di tambak, dilanjutkan dengan kegiatan sortasi, pencucian, dan penimbangan udang di area tambak. Udang hasil sortasi dimasukkan ke dalam wadah plastik dan dilakukan pengesekan untuk mempertahankan suhu rendah (<4°C). Selanjutnya udang ditransportasikan ke pengepul. Udang disimpan sementara di pengepul sampai jumlah kebutuhan udang oleh UPI terpenuhi, dan selama penyimpanan dilakukan pengesekan. Pengiriman udang selanjutnya dilakukan oleh pengepul ke UPI dan diterima di bagian penerimaan bahan baku. Saat transportasi udang yang dilakukan oleh pengepul, suhu udang dipertahankan rendah (<4°C) untuk mempertahankan mutu udang. Bahan baku udang segar selanjutnya dilakukan proses pengolahan dan menghasilkan produk akhir dalam bentuk udang beku. Gambaran ini merupakan rantai pasok pengolahan udang beku yang secara umum berlaku di Indonesia.

Secara keseluruhan prevalensi *L. monocytogenes* di udang vaname pada penelitian ini sebesar 6,7% (9/135 sampel) dengan tingkat kontaminasi berkisar 6,1-1.100 APM/g (Tabel 1). Prevalensi *L. monocytogenes* pada udang yang ditemukan pada penelitian ini relevan dengan beberapa laporan hasil penelitian lain baik



Gambar 1. Rantai pengolahan udang beku di Indonesia

Figure 1. Frozen shrimp processing chain in Indonesia

udang hasil budidaya maupun udang tangkapan yaitu berkisar 1,5-28,8% (Cordano & Rocourt, 2001; Fallah et al., 2013; Gawade et al., 2010; Gudmundsdóttir, Gudbjörnsdóttir, Einarsson, Kristinsson, & Kristjansson, 2006; Moharem, Charith Raj & Janardhan, 2007; Parihar, Barbuddhe, Danielsson Thm, & Tham, 2008; Wang et al., 2011; Yadollahi et al., 2013). Hasil studi epidemiologi tentang bakteri *L. monocytogenes* juga menyebutkan bahwa udang adalah salah satu pangan yang diduga sebagai penyebab kasus listeriosis (Riedo et al., 1994).

Kontaminasi *L. monocytogenes* pada penelitian ini terdeteksi pada sampel udang dari tambak, bahan baku di bagian penerimaan, dan produk akhir di bagian pembekuan di UPI, yang berasal dari *batch* yang sama. Hal ini menunjukkan kontaminasi *L. monocytogenes* kemungkinan bersumber dari area budidaya udang karena merupakan salah satu habitat bakteri ini. *L. monocytogenes* merupakan bakteri psikrotropik, sehingga memungkinkan bakteri ini tetap hidup selama penanganan udang yang menggunakan es. Lingkungan dan peralatan pengolahan di UPI yang tidak memenuhi standar sanitasi dan higiene juga memungkinkan terjadinya kontaminasi, karena *L. monocytogenes* mampu bertahan hidup dan memiliki kemampuan membentuk *biofilm*.

#### **Prevalensi *Listeria monocytogenes* di Tambak Udang**

Pada penelitian ini diketahui bahwa prevalensi *L. monocytogenes* di udang yang berasal dari tambak

(6,1%) lebih rendah dari yang pernah dilaporkan oleh Motes (1991), yaitu sebanyak 11% udang yang berasal dari beberapa lokasi di wilayah *Gulf Coast*, USA terkonfirmasi *L. monocytogenes*. Prevalensi *L. monocytogenes* pada produk perikanan hasil budidaya selain di Indonesia, juga pernah dilaporkan dan diketahui berkisar 0-34% (Bhaskar et al., 1998; Gram, 2001; Gudmundsdóttir et al., 2006; Hansen, Vogel & Gram, 2006).

Tambak udang vaname umumnya menggunakan sumber air yang berasal dari perairan laut dan sungai, yang diketahui menjadi salah satu sumber keberadaan bakteri *L. monocytogenes* di lingkungan tambak. Hal ini karena air membawa material-material seperti hasil vegetasi tanaman, feses hewan dan limbah manusia yang merupakan habitat *L. monocytogenes* (Embrey 1994; El-Shenawy & El-Shenawy, 2006; Lyautey et al., 2007; Miettinen & Wirtanen, 2005, 2006).

Selain itu sedimen juga dapat menjadi sumber kontaminasi *L. monocytogenes* di lingkungan budidaya dan bakteri ini diketahui mampu bertahan hidup dalam jangka waktu yang lama di sedimen (Botzler, Cowan, & Wetzler, 1974; Miettinen & Wirtanen, 2006; Schaffter & Pariaux, 2002). Kondisi lingkungan yang lembab pada bagian dasar tambak memberikan proteksi dan sumber nutrisi sehingga memungkinkan *L. monocytogenes* bertahan hidup (Fenlon, 1999). Pada penelitian ini tambak udang vaname yang menjadi tempat pengambilan sampel rata-rata memiliki dasar tambak dari tanah yang merupakan habitat *L. monocytogenes*. Hites et al.

Tabel 1. Prevalensi dan tingkat kontaminasi *L. monocytogenes* pada udang

Table 1. Prevalence and contamination level of *L. monocytogenes* in shrimp

Asal Sampel/Sample Origin	Jumlah Sampel/ No. of Sample	Jumlah Sampel Positif/ No. of Positive Sample (%)	Tingkat Kontaminasi (APM/g)/ Contamination Levels (MPN/g)
Tambak (udang segar)/Shrimp culture (fresh shrimp)	33	2/33 (6.1)	6.1-150
Bahan baku dari bagian penerimaan di UPI (udang segar)/Raw material from the receiving point of the processing plant (fresh shrimp)	52	5/52 (9.6)	9.2-1,100
Produk akhir dari bagian proses pembekuan di UPI (udang beku)/End product from the freezing point of the processing plant (frozen shrimp)	50	2/50 (4)	240-1,100
Total/Total	135	9/135 (6.7)	

Keterangan/Note: Persyaratan *L. monocytogenes* pada produk perikanan (termasuk udang beku): negatif/25 g / Requirements of *L. monocytogenes* presence in fishery products (including frozen shrimp): negative/25 g (BPOM, 2019)

(2004) menyatakan bahwa kontaminasi patogen di lingkungan budidaya merupakan permasalahan penting karena berdampak terhadap komoditas budidaya dan berpotensi menimbulkan risiko pada produk yang dihasilkan oleh industri pengolahan.

Informasi tentang keberadaan *L. monocytogenes* di lingkungan budidaya udang masih terbatas (Norhana, Pool, Deeth & Dykes, 2010), terutama di wilayah yang beriklim tropis seperti Indonesia. Embarek (1994) melaporkan bahwa prevalensi *L. monocytogenes* di udang lebih tinggi ditemukan di wilayah beriklim sedang (4-12%) dibandingkan wilayah dengan iklim tropis (0-2%), namun beberapa hasil penelitian lain menunjukkan bahwa prevalensi *L. monocytogenes* di produk udang dari wilayah tropis sama dengan wilayah dengan iklim sedang (Norhana et al., 2010). Prevalensi *L. monocytogenes* pada produk perikanan di beberapa wilayah tropis pernah dilaporkan, seperti di Brazil dengan kisaran 17-18% (Destro, Leitao, & Farber, 1996), India sebesar 6,7% (Moharem et al., 2007), dan Malaysia sebesar 44% (Arumugaswamy, Ali, & Abd Hamid, 1994).

### **Prevalensi *Listeria monocytogenes* di Bahan Baku**

Berdasarkan hasil wawancara dengan pihak UPI, petambak, maupun pengepul, diperoleh informasi bahwa UPI memperoleh bahan baku udang vaname dengan cara langsung membeli ke petani tambak atau dari pengepul yang mendapatkan udang dari beberapa petani tambak. Sistem pengadaan udang vaname secara langsung dari petani tambak ditemukan di UPI yang berlokasi di DKI Jakarta dan Jawa Timur, bahkan terdapat UPI yang memiliki tambak sendiri. Untuk UPI yang berlokasi di Sulawesi Selatan umumnya memperoleh udang vaname dari pengepul.

Sampel udang yang terdeteksi *L. monocytogenes* di bagian penerimaan bahan baku merupakan sampel dalam *batch* yang sama dengan udang yang berasal dari tambak, dan prevalensinya lebih tinggi dibandingkan dengan sampel udang asal tambak, sehingga kontaminasi ini kemungkinan terjadi sejak dari tambak. Penerapan sistem rantai dingin yang diterapkan mulai dari udang dipanen dari tambak, saat penyimpanan di pengepul, dan transportasi udang sampai ke UPI, kemungkinan dapat mempertahankan keberadaan *L. monocytogenes*, karena kemampuan bakteri tumbuh di suhu refrigerasi (Beaufort et al., 2007; Zhu et al., 2005). Bakteri *L. monocytogenes* diketahui mampu bertahan hidup pada suhu rendah dan dikenal sebagai bakteri psikrotropik, sehingga perlakuan suhu rendah dapat memicu pertumbuhan bakteri ini pada bahan pangan (Liu, Mou, & Su, 2016). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian

Gudmundsdóttir et al. (2006), bahwa sebanyak 20,9% (9/43 sampel) udang di bagian penerimaan bahan baku terkonfirmasi *L. monocytogenes*, bahkan bakteri ini terdeteksi di cangkang udang sebanyak 16,7% (3/18 sampel) di dua UPI. Selain itu, kontaminasi *L. monocytogenes* di bagian penerimaan bahan baku dapat bersumber dari lingkungan dan peralatan pengolahan di area tersebut (Thimothe et al., 2004; Wulff, Gram, Ahrens, & Vogel 2006).

### **Prevalensi *Listeria monocytogenes* di Produk Akhir**

Kontaminasi *L. monocytogenes* terdeteksi di udang beku yang merupakan produk akhir UPI. Sampel udang ini berasal dari *batch* yang sama dengan udang dari tambak dan penerimaan bahan baku. Selain dari tambak, *L. monocytogenes* dapat mengkontaminasi produk selama proses pengolahan, yang kemungkinan dapat berasal dari lingkungan pengolahan, peralatan pengolahan, serta personil yang terlibat selama pengolahan (Gudbjörnsdóttir et al., 2004; Gudmundsdóttir et al., 2005; Lappi et al., 2004; Norton et al., 2001; Rørvik, Caugant, & Yndestad, 1995; Rørvik, 2000; Thimothe et al., 2002; Thimothe et al., 2004).

Peralatan pengolahan seperti pisau, ban berjalan, saluran air, dan lantai merupakan sumber kontaminasi tertinggi *L. monocytogenes* di area pengolahan produk perikanan, karena beberapa strain *L. monocytogenes* yang persisten tidak dapat hilang setelah dilakukan pembersihan pada area dan peralatan pengolahan (Vogel, Huss, Ojeniyi, Ahrens & Gram, 2001; Wulff et al. 2006). Selain itu, kemampuan *L. monocytogenes* berkolonisasi di lingkungan pengolahan dan membentuk *biofilm*, memungkinkan bakteri ini menempel dan bertahan hidup pada kondisi stres sekalipun seperti di permukaan fasilitas pengolahan pangan, dan kondisi ini yang menyebabkan pangan terkontaminasi selama pengolahan (Chaturongkasumrit, Takahashi, Keeratiipibul, Kuda, & Kimura 2011; Yan et al., 2010). Namun demikian, dalam penelitian ini pengamatan hanya difokuskan pada komoditas udang dan tidak dilakukan pengamatan pada peralatan di lingkungan UPI. Oleh karena itu, diperlukan pengamatan yang lebih komprehensif untuk mendapatkan informasi yang lebih jelas terkait dengan asal kontaminasi *L. monocytogenes* pada pengolahan produk udang beku.

Transmisi kontaminasi *L. monocytogenes* melalui area pengolahan produk belum sepenuhnya dipahami, namun alur ini menjadi informasi penting dalam menelusuri terjadinya kontaminasi bahkan kasus keracunan akibat pangan (Miettinen & Wirtanen 2006). Salah satu metode penelusuran yang dilakukan

adalah dengan mengidentifikasi sub tipe spesies *L. monocytogenes* yang ditemukan di bahan pangan mulai dari bahan baku, proses pengolahan dan produk akhir, jika ditemukan sub tipe *L. monocytogenes* yang sama maka kemungkinan prevalensi bakteri ini pada produk akhir berasal dari bahan baku (Nakamura et al., 2006; Norton et al., 2001; Vogel, et al., 2001; Wulff et al., 2006).

Penelitian tentang prevalensi dan tingkat kontaminasi *L. monocytogenes* pada udang vaname yang berasal dari tambak, bahan baku di bagian penerimaan, dan produk akhir di bagian proses pembekuan di UPI, yang ketiganya merupakan satu alur proses pengolahan baru pertama kali dilaporkan di Indonesia. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peluang kontaminasi *L. monocytogenes* terhadap produk akhir yang berasal dari ketiga rantai tersebut. Beberapa hasil penelitian serupa, selain di Indonesia, menunjukkan bahwa prevalensi *L. monocytogenes* pada produk udang di tambak sebesar 11% (Motes, 1991), di bahan baku dengan kisaran 4-20,9% (Fallah et al., 2013; Gudmundsdóttir et al., 2006), dan produk akhir dengan kisaran 5,6-26,5% (Fallah et al. 2013; Valdimarsson, Einarsson, Gudbjörnsdóttir & Magnusson, 1998).

### Tingkat Kontaminasi *Listeria monocytogenes*

Berdasarkan hasil penelitian ini, tingkat kontaminasi *L. monocytogenes* diketahui berkisar 6,1-1100 APM/g (Tabel 1). Tingkat kontaminasi tertinggi *L. monocytogenes* pada udang adalah 1.100 APM/g yang terdeteksi pada udang yang berasal dari bahan baku di bagian penerimaan dan produk akhir di bagian proses pembekuan di UPI, sementara itu tingkat kontaminasi terendah adalah 6,1 APM/g yang berasal dari tambak.

Regulasi terkait tingkat kontaminasi *L. monocytogenes* pada produk perikanan di Indonesia diatur di dalam Peraturan Kepala BPOM No. 13/2019 tentang batas kontaminasi mikroba pada pangan olahan, yang menyatakan bahwa kontaminasi *L. monocytogenes* tidak diperbolehkan terdapat di dalam pangan (negatif/25 g). Sementara itu Codex Alimentarius Commission CAC/GL 61-2007 mengatur tingkat kontaminasi bakteri *L. monocytogenes* untuk pangan di dalam kriteria mikrobiologi yaitu negatif/25 g untuk pangan yang dapat mendukung pertumbuhan *L. monocytogenes* dan tidak ada pengendalian terhadap pertumbuhan bakteri sebelum dikonsumsi (CAC, 2007). Persyaratan ini diberlakukan oleh negara-negara di Uni Eropa, Australia, dan Selandia Baru. Amerika Serikat juga memberlakukan

persyaratan negatif/25 g pada pangan siap konsumsi (FDA, 2011).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sebanyak 9/135 sampel udang yang terkontaminasi *L. monocytogenes* tidak memenuhi persyaratan sebagai pangan yang aman untuk dikonsumsi berdasarkan regulasi yang diterapkan di Indonesia maupun di negara lain. Jika dikaitkan dengan produk perikanan untuk pasar ekspor, keberadaan *L. monocytogenes* pada produk ekspor seperti udang akan mengakibatkan terjadinya kasus penolakan ekspor dan berdampak pada kerugian material bagi pelaku usaha dan menurunnya tingkat kepercayaan importir. Oleh karena itu perlu dilakukan upaya pengendalian untuk mencegah kontaminasi tersebut. *L. monocytogenes* dapat mencemari udang mulai dari lingkungan budidaya, proses pengolahan, hingga produk akhir. Pengetahuan tentang sumber bakteri ini di lingkungan budidaya maupun UPI menjadi sangat penting untuk dapat melakukan tindakan pengendalian. Program pembersihan dan desinfeksi yang terencana dengan baik di lingkungan dan peralatan pengolahan, implementasi Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP), praktik berproduksi dan higiene yang baik, kualitas bahan baku udang, disain fasilitas pengolahan yang tidak memberi peluang tumbuhnya *L. monocytogenes*, serta pelatihan karyawan, merupakan langkah-langkah yang harus dilakukan untuk menurunkan peluang kontaminasi (Jami et al., 2014; Miettinen & Wirtanen, 2005).

### KESIMPULAN

Secara keseluruhan prevalensi *L. monocytogenes* di udang vaname yang merupakan komoditas ekspor adalah 6,7% dengan tingkat kontaminasi 6,1-1.100 APM/g. Keberadaan *L. monocytogenes* pada udang vaname diketahui terjadi sejak udang di tambak, bahan baku di bagian penerimaan, dan produk akhir di UPI dengan prevalensinya berturut-turut 6,1; 9,6; dan 4%. Penerapan GAP (Good Aquaculture Practices) pada budidaya udang vaname, HACCP dan GMP (Good Manufacturing Practices) selama pengolahan udang beku di UPI, serta sanitasi dan higiene selama penanganan dan transportasi dari tambak ke UPI menjadi faktor utama dalam menjamin mutu dan keamanan produk udang beku. Berdasarkan hasil penelitian ini, perlu dilakukan kajian secara detil mengenai sumber kontaminasi *L. monocytogenes* di sepanjang rantai pengolahan udang beku termasuk asal bahan baku (di tambak, pengepul, dan selama transportasi) untuk mengetahui dan menentukan titik kritis peluang kontaminasi *L. monocytogenes*.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DIPA Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan tahun 2015 dengan judul penelitian “Penelitian Peningkatan Jaminan Mutu Dan Keamanan Pangan”. Dalam penyusunan artikel penelitian ini, Yusma Yennie, Gunawan, dan Farida Ariyani bertindak sebagai kontributor utama. Ucapan terima kasih diberikan kepada Unit Pelayanan Teknis (UPT) Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) atas bantuan dan kerjasamanya selama pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arumugaswamy, R. K., Ali, G. R. R., & Abd Hamid, S. N. (1994). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods in Malaysia. *International Journal of Food Microbiology*, 23(1), 117-121. doi: 10.1016/0168-1605(94)90227-5.
- Aznar, R., & Alarcón, B. (2003). PCR detection of *Listeria monocytogenes*: a study of multiple factors affecting sensitivity. *Journal of applied microbiology*, 95(5), 958-966. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02066.x.
- Beaufort, A., Rudelle, S., Gnanou-Besse, N., Toquin, M. T., Kerouanton, A., Bergis, H., ... & Cornu, M. (2007). Prevalence and growth of *L. monocytogenes* in naturally contaminated cold-smoked salmon. *Letters in Applied Microbiology*, 44(4), 406–411.
- Beleneva, I. A. (2011). Incidence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* from the Japan and South China seas. *Marine Pollution Bulletin*, 62(2), 382-387. doi: 10.1016/j.marpbul.2010.09.024.
- Bhaskar, N., Setty, T. M. R., Mondal, S., Joseph, M. A., Raju, C.V., Raghunath, B. S., & Ananthaet, C. S. (1998). Prevalence of bacteria of public health significance in the cultured shrimp (*Penaeus monodon*). *Food Microbiology*, 15(5), 511–519. doi: 10.1006/fmic.1998.0186.
- Botzler, R. G., Cowan, A. B., & Wetzler, T. F. (1974). Survival of *L. monocytogenes* in soil and water. *Journal of Wildlife Diseases*, 10(3), 204–212. doi: 10.7589/0090-3558-10.3.204.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). (2019). *Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 13 Tahun 2019 tentang Batas Maksimal Kontaminasi Mikroba Dalam Pangan Olahan*. 1-48.
- Customer Acquisition Cost (CAC). (2007). *Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of Listeria monocytogenes in foods*. CAC/GL 61-2007. [http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10740/CXG\\_061e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10740/CXG_061e.pdf).
- Calo-Mata, P., Arlindo, S., Boehme, K., de Miguel, T., Pascoal, A., & Barros-Velazquez, J. (2008). Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. *Food Bioprocess Technol.*, 1, 43-63.
- Chaturongkasumrit, Y., Takahashi, H., Keeratipibul, S., Kuda, T., & Kimura, B. (2011) The effect of polyurethane belt surface roughness on *L. monocytogenes* biofilm formation and its cleaning efficiency. *Food Control*, 22(12), 1893-1899. doi: 10.1016/j.foodcont.2011.04.032.
- Chen, M., Wu, Q., Zhang, J., Wu, S., & Guo, W. (2015). Prevalence, enumeration, and pheno- and genotypic characteristics of *L. monocytogenes* isolated from raw foods in South China. *Frontiers in microbiology*, 6, 1-12. doi: 10.3389/fmicb.2015.01026.
- Cordano, A. M. & Rocourt, J. (2001) Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Chile. *International Journal of Food Microbiology*, 70(1-2), 175-178. doi: 10.1016/s0168-1605(01)00533-5
- Destro, M. T., Leitao, M. F. F., & Farber, J. M. (1996). Use of molecular typing methods to trace the dissemination of *Listeria monocytogenes* in a shrimp processing plant. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(2), 705-711. doi: 10.1128/aem.62.2.705-711.1996.
- El-Shenawy, M. A., & El-Shenawy, M. A. (2006). *Listeria* spp. in the coastal environment of the Aqaba Gulf, Suez Gulf and the Red Sea. *Epidemiology & Infection*, 134(4), 752-757. doi: 10.1017/S0950268805005601
- Embarek, P. K. B. (1994). Presence, detection and growth of *L. monocytogenes* in seafoods: a review. *Journal of food microbiology*, 23(1), 17-34. doi: 10.1016/0168-1605(94)90219-4
- Esteban, J. I., Oporto, B., Aduriz, G., Juste, R. A. & Hurtado, A. (2009). Faecal shedding and strain diversity of *Listeria monocytogenes* in healthy ruminants and swine in Northern Spain. *BMC Veterinary Research*, 5(1), 1-10. doi: 10.1186/1746-6148-5-2
- Food and Drug Administration (FDA). (2011). *Fish and fishery products hazards and controls guidance*. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration USA. <http://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/ucm251970.pdf>.
- Fallah, A. A., Saei-Dehkordi, S. S., & Mahzounieh, M. (2013). Occurrence and antibiotic resistance profiles of *L. monocytogenes* isolated from seafood products and market and processing environments in Iran. *Food control*, 34(2), 630-636. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.06.015.
- Fenlon, D. R. (1999). *L. monocytogenes in the Natural Environment*, 21–38. In E. T. Ryser and E. H. Marth (ed.), *Listeria listeriosis and food safety*, 2nd ed. Marcel Decker, Inc., New York, N.Y.
- Franciosa, G., Tartaro, S., Wedell-Neergaard, C., & Aureli, P. (2001). Characterization of *L. monocytogenes* strains involved in invasive and noninvasive listeriosis outbreaks by pcr-based fingerprinting techniques. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(4), 1793-1799. doi:10.1128/aem.67.4.1793-1799.2001.

- Gambarin, P., Magnabosco, C., Losio, M. N., Pavoni, E., Gattuso, A., Arcangeli, G., & Favretti, M. (2012). *L. monocytogenes* in ready-to-eat seafood and potential hazards for the consumers. *International Journal of Microbiology*, 2012, 1-10. doi: 10.1155/2012/497635.
- Gandhi, M., & Chikindas, M. L. (2007). *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive: Review. *International journal of food microbiology*, 113(1), 1-15. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.07.008
- Gawade, L., Barbuddhe, S. B., & Bhosle, S. (2010). Isolation and confirmation of *Listeria* species from seafood of Goa region by polymerase chain reaction. *Indian journal of microbiology*, 50(4), 385-389. doi: 10.1007/s12088-011-0064-y
- Ghanbari, M., Jami, M., Domig, K. J., & Kneifel, W. (2013). Seafood biopreservation by lactic acid bacteria – a review. *LWT – Food Sci Technol*, 50(2), 315–24.
- Gram L. (2001). Potential hazards in cold-smoked fish: *Listeria monocytogenes*. *J. Food Sci.*, 66, 1072–1081.
- Gudbjörnsdóttir, B., Suihko, M. L., Gustavsson, P., Thorkelsson, G., Salo, S., Sjöberg, A. M., ... & Bredholt, S. (2004). The incidence of *L. monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiology*, 21(2), 217-225. doi:10.1016/S0740-0020(03)00012-1
- Gudmundsdóttir, S., Gudbjörnsdóttir, B., Lauzon, H. L., Einarsson, H., Kristinsson, K. G., & Kristjánsson, M. (2005). Tracing *L. monocytogenes* isolates from coldsmoked salmon and its processing environment in Iceland using pulsed-field gel electrophoresis. *International journal of food microbiology*, 101(1), 41-51. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.08.023.
- Gudmundsdóttir, S., Gudbjörnsdóttir, B., Einarsson, H., Kristinsson, K. G., & Kristjánsson, M. (2006). Contamination of cooked peeled shrimp (*Pandalus borealis*) by *L. monocytogenes* during processing at two processing plants. *Journal of Food Protection*, 69 (6), 1304-1311. doi: 10.4315/0362-028x-69.6.1304
- Hansen, C. H., Vogel, B. F. & Gram, L. (2006). Prevalence and survival of *L. monocytogenes* in danish aquatic and fish-processing environments. *Journal of food protection*, 69(9), 2113-2122. doi: 10.4315/0362-028x-69.9.2113
- Hitchens, A. D. (2003). *FDA-BAM online: Detection and enumeration of Listeria monocytogenes in foods*. <<http://www.cfsan.fda.gov/webam/bam-10.html>>.
- Hites, R. A., Foran, J. A., Carpenter, D. O., Hamilton, M. C., Knuth, B. A., & Schwager, S. J. (2004). Global assessment of organic contaminant in farmed salmon. *Science*, 303(5655), 226-229. doi: 10.1126/science.1091447
- Jadhav, S., Bhave, M., & Palombo, E. A. (2012). Methods used for the detection and subtyping of *Listeria monocytogenes*. *Journal of microbiological methods*, 88(3), 327-341. doi: 10.1016/j.mimet.2012.01.002.
- Jami, M., Ghanbari, M., Zunabovic, M., Domig, K. J., & Kneifel, W. (2014). *L. monocytogenes* in aquatic food products-a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 798-813. doi: 10.1111/1541-4337.12092
- Lappi, V. R., Ho, A., Gall, K. & Wiedmann, M. (2004). Prevalence and growth of *Listeria* on naturally contaminated cold-smoked salmon over 28 days of storage at 4 degrees C. *Journal Food Protection*, 67(5), 1022–1026. doi: 10.4315/0362-028x-67.5.1022
- Liu, C., Mou, J., & Su, Y. C. (2016). Behavior of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in raw yellowfin tuna during cold storage. *Foods*, 5(1), 1-9. doi: 10.3390/foods5010016
- Lyautey, E., Lapen, D. R., Wilkes, G., McCleary, K., Pagotto, F., Tyler, K., ... & Topp, E. (2007). Distribution and characteristics of *Listeria monocytogenes* isolates from surface waters of the south nation river watershed, Ontario, Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(17), 5401-5410. doi: 10.1128/aem.00354-07
- Miettinen, H., & Wirtanen, G. (2005). Prevalence and location of *L. monocytogenes* in farmed rainbow trout. *International Journal of Food Microbiology*, 104(2), 135-143. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.01.013
- Miettinen, H., & Wirtanen, G. (2006). Ecology of *Listeria* spp. in a fish farm and molecular typing of *L. monocytogenes* from fish farming and processing companies. *International Journal of Food Microbiology*, 112(2), 138–146. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.016
- Moharem, A. S., Charith Raj, A. P., & Janardhan, G. R. (2007). Incidence of *Listeria* species in seafood products of Mysore, India. *Journal of food safety*, 27(4), 362-372. doi: 10.1111/j.1745-4565.2007.00085.x
- Motes, M. L. (1991). Incidence of *Listeria* spp. in shrimp, oysters, and estuarine waters. *Journal of food protection*, 54(3), 170-173. doi: 10.4315/0362-028X-54.3.170
- Nakamura, H., Tokuda, Y., Sono, A., Koyama, T., Ogasawara, J., Hase, A., ... & Nishikawa, Y. (2006). Molecular typing to trace *L. monocytogenes* isolated from cold-smoked fish to a contamination source in a processing plant. *Journal Food Protection*, 69(4), 835–41. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.02.010
- Norhana, M. N. W., Pool, S. E., Deeth, H. C., & Dykes, G. A. (2010) Prevalence, persistence and control of *Salmonella* and *Listeria* in shrimp and shrimp products: a review. *Food Control*, 21(4), 343–361. doi: 10.1016/j.foodcont.2009.06.020.
- Norton, D. M., McCamey, M. A., Gall, K. L., Scarlett, J. M., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2001). Molecular studies on the ecology of *L. monocytogenes* in the smoked fish processing industry. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1), 198-205. doi: 10.1128/AEM.67.1.198-205.2001
- Palumbo, D., Iannacone, M., Porta, A., & Capparelli, R. (2010). Experimental antibacterial therapy with puroindolines, lactoferrin and lysozyme in *Listeria monocytogenes*-infected mice. *Microbes and Infection*, 12(7), 538-545. doi: 10.1016/j.micinf.2010.03.010
- Parihar, V. S., Barbuddhe, S. B., Danielsson-Thm, M. L., & Tham, W. (2008). Isolation and characterization of

- Listeria* species from tropical seafoods. *Food Control*, 19(6), 566-9. doi: 10.1016/j.foodcont.2007.06.009
- Paziak-Domanska, B., Boguslawska, E., Wieckowska-Szakiel, M., Kotlowski, R., Różalska, B., Chmiela, M., ... & Rudnicka, W. (1999). Evaluation of the API test, phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity and PCR method in identification of *L. monocytogenes* in meat foods. *FEMS Microbiol Letters*, 171(2), 209-214. doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13434.x.]
- Rahayu, W. P., Rinanti, R., Nurjanah, S., & Nurwitri, C. C. (2016). Identifikasi *Listeria monocytogenes* pada kerang hijau dan kerang darah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(3), 329-338. doi: 10.17844/jphpi.2016.19.3.329
- Riedo, F. X., Pinner, R. W., Tosca, M. D. L., Cartter, M. L., Graves, L. M., Reeves, M. W., ... & Broome, C. (1994). A point-source foodborne outbreak: Documented incubation period and possible mild illness. *Journal of Infectious Diseases*, 170(3), 693-696. doi: 10.1093/infdis/170.3.693
- Rørvik, L. M. (2000). *L. monocytogenes* in the cold-smoked salmon industry. *International Journal of Food Microbiology*, 62(3), 183-190. doi: 10.1016/s0168-1605(00)00334-2
- Rørvik, L. M., Caugant, D. A., & Yndestad, M. (1995). Contamination pattern of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. in a salmon slaughterhouse and smoked salmon processing plant. *International journal of food microbiology*, 25(1), 19-27. doi: 10.1016/0168-1605(94)00080-p
- Schaffter, N., & Parriaux, A. (2002). Pathogenic-bacterial water contamination inmountainous catchments. *Water Research*, 36(1), 131-139. doi: 10.1016/s0043-1354(01)00242-1
- SNI ISO 11290-1. (2012). *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan*. Metode horizontal untuk deteksi dan enumerasi *L. monocytogenes*. Bagian 1: Metode deteksi.
- Sotgiu, G., Muresu, N., Dettori, M., Mura, E., Cossu, A., Dolores Masia, M., ... & Piana, A. (2019). Case Report: A case of *Listeria monocytogenes* ST-219 meningo-encephalitis. *Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(1), 8, doi: 10.3390/ijerph16010008
- Thimothe, J., Nightingale, K. K., Gall, K., Scott, V. N., & Wiedmann, M. (2004). Tracking of *L. monocytogenes* in smoked fish processing plants. *Journal of food protection*, 67(2), 328-341. doi: 10.4315/0362-028X-67.2.328
- Thimothe, J., Walker, J., Suvanich, V., Gall, K. L., Moody, M.W., & Wiedmann, M. (2002). Detection of *Listeria* in crawfish processing plants and in raw, whole crawfish and processed crawfish (*Procambarus* spp.). *Journal of food protection*, 65(11), 1735-1739. doi: 10.4315/0362-028x-65.11.1735
- Valdimarsson, G., Einarsson, H., Gudbjörnsdóttir, B., & Magnusson, H. (1998). Microbiological quality of Icelandic cooked-peeled shrimp (*Pandalus borealis*). *Journal of Food Microbiology*, 45(2), 157-161. doi: 10.1016/s0168-1605(98)00149-4
- Vogel, B. F., Huss, H. H., Ojeniyi, B., Ahrens, P., & Gram, L. (2001). Elucidation of *L. monocytogenes* contamination routes in cold-smoked salmon processing plants detected by DNA-based typing methods. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6), 2586-2595. doi: 10.1128/AEM.67.6.2586-2595.2001
- Wang, F., Jiang, L., Yang, Q., Han, F., Chen, S., Pu, S., ... & Ge, B. (2011). Prevalence and antimicrobial susceptibility of major foodborne pathogens in imported seafood. *Journal of food protection*, 74(9), 1451-1461. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-11-146
- Wulff, G., Gram, L., Ahrens, P., & Vogel, B. F. (2006). One group of genetically similar *L. monocytogenes* strains frequently dominates and persists in several fish slaughter and smokehouses. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 4313-4322. doi: 10.1128/AEM.02288-05
- Yadollahi, S., Momtaz, H., Doudi, M., Taj bakhsh, E. (2013). Isolation and characterization of *Listeria* species and determines *L. monocytogenes* serotypes in fresh fish, shrimp, crab and lobster in Isfahan and Shahrekhord, Iran. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1(5), 493-504.
- Yan, H., Neogi, S. B., Mo, Z., Guan, W., Shen, Z., Zhang, S., ... & Zhong, N. (2010). Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005-2007. *International Journal of Food Microbiology*, 144(2), 310-316. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.10.015
- Yuswita, E., Nurjanah, S., & Rahayu, W. P. (2016). Identifikasi *Listeria* spp. pada pangan jajanan berbasis ikan di kota Bogor. *Teknologi dan Industri Pangan*, 27(1), 10-16. doi: 10.6066/jtip.2016.27.1.10
- Zhu, M., Du, M., Cordray, J., & Ahn, D. U. (2005). Control of *L. monocytogenes* contamination in ready-to-eat meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4(2).