

Kemampuan fag litik *Listeria* dalam menginfeksi *Listeria grayi* pada matrik udang

The ability of Listeria lytic phage of infect Listeria grayi in shrimp matrices

Retnani Rahmiati ^{1)*}, Winiati P Rahayu ²⁾, Sri Budiarti ³⁾, Harsi D Kusumaningrum ²⁾

¹ Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Dr. Soetomo Surabaya;

¹ S3 Departemen Ilmu Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

² Departemen Ilmu Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

³ Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor

*Email korespondensi: retnani.rahmiati@unitomo.ac.id

Informasi artikel:

Dikirim: 09/06/2024; disetujui: 15/09/2024; diterbitkan: 30/09/2024

ABSTRACT

Shrimp belongs to type of food that oftenly contaminated with Listeria spp. Bacteriophage as an antimicrobial agent represents an attractive way to destroy bacterial contamination on food. This study presents the proof of lytic phage of Listeria (FL03) usage and influenced storage temperature to infect Listeria grayi on food matrix of shrimp. Shrimp samples were inoculated with 1.3×10^7 CFU mL⁻¹ L. grayi (BA03) and then treated with 1.5×10^8 PFU mL⁻¹ lytic phage of Listeria (FL03). The total number of L. grayi was counted at storage times of 0, 1, 24 and 48 hours at room temperature (± 28 °C) and cold temperature (± 4 °C). The results showed that shrimp treated with phage FL03 showed a decrease in the number of L. grayi compared to the control, namely $0 - 0.15 \log_{10}$ CFU g⁻¹ at room temperature (± 28 °C) and $0.93 - 1.37 \log_{10}$ CFU g⁻¹ at cold temperatures (± 4 °C). Treatment at cold temperatures (± 4 °C) can inhibit the growth of L. grayi by $2.01 - 2.98 \log_{10}$ CFU g⁻¹. The growth inhibition of L. grayi increased further when treatment at cold temperatures (± 4 °C) was combined with FL03 phage treatment, namely to $3.38 - 3.76 \log_{10}$ CFU g⁻¹. These findings illustrated that phage FL03 could infect and cause lysis of L. grayi on food matrix of shrimp samples.
Keywords: antimicrobial, biocontrol, lytic Listeria phage, food safety, contamination

ABSTRAK

Udang adalah termasuk jenis pangan yang sering terkontaminasi oleh *Listeria* spp. Bakteriofag merupakan agen antimikrobia yang mampu menghancurkan kontaminasi bakteri pada pangan. Penelitian ini bertujuan untuk mendemonstrasikan kemampuan fag litik *Listeria* (FL03) dalam menginfeksi *Listeria grayi* pada matrik pangan udang yang dipengaruhi oleh suhu penyimpanan. Sampel udang diinokulasi dengan *L. grayi* (BA03) $1,3 \times 10^7$ CFU mL⁻¹ dan kemudian diberi perlakuan $1,5 \times 10^8$ PFU mL⁻¹ fag litik *Listeria* (FL03). Jumlah total *L. grayi* dihitung pada waktu penyimpanan 0, 1, 24 dan 48 jam pada suhu ruang (± 28 °C) dan suhu dingin (± 4 °C). Hasil penelitian memperlihatkan udang yang diberi perlakuan fag FL03 menunjukkan jumlah *L. grayi* yang menurun bila dibandingkan kontrol yaitu sebesar $0 - 0,15 \log_{10}$ CFU g⁻¹ pada suhu ruang (± 28 °C) dan $0,93 - 1,37 \log_{10}$ CFU g⁻¹ pada suhu dingin (± 4 °C). Perlakuan pada suhu dingin (± 4 °C) dapat menghambat pertumbuhan *L. grayi* sebesar $2,01 - 2,98 \log_{10}$ CFU g⁻¹. Penghambatan pertumbuhan *L. grayi* tersebut lebih meningkat bila perlakuan pada suhu dingin (± 4 °C) dikombinasi dengan perlakuan fag FL03 yaitu menjadi sebesar $3,38 -$

3,76 log₁₀ CFU g⁻¹. Penemuan ini menggambarkan bahwa fag FL03 mampu menginfeksi dan menyebabkan lisisnya *L. grayi* pada matrik udang.

Kata kunci: antimikrobal, biokontrol, fag litik *Listeria*, keamanan pangan, kontaminasi

PENDAHULUAN

Udang merupakan bahan pangan yang mungkin terkontaminasi oleh *Listeria monocytogenes* dan *Listeria* spp. lainnya. Kontaminasi tersebut dapat terjadi pada saat proses budidaya atau saat proses pengolahan dan penyimpanan. Kejadian kontaminasi oleh *Listeria* spp. pada udang telah dilaporkan oleh beberapa peneliti (Wong *et al.* 2011; Md.Rokibul *et al.* 2013). Hasil produk perikanan Indonesia terutama udang yang diekspor terbukti mempunyai risiko terkontaminasi oleh *Listeria* spp. (FDA 2013). Demikian juga hasil penelitian pendahuluan yang memperlihatkan adanya cemaran bakteri *Listeria* spp. (56,0%, n=25) pada udang segar yang diambil di daerah Bogor.

Bakteriofag (fag) adalah musuh alami bakteri (Klumpp dan Loessner 2013). Fag ini spesifik terhadap inangnya sehingga dapat dimanfaatkan sebagai biokontrol. Pemanfaatan fag untuk mereduksi bakteri patogen menjadi solusi yang sangat menjanjikan pada masa sekarang ini karena merupakan agen biokontrol dan/atau biopreservatif yang tepat sasaran, efektif dan efisien, aman dikonsumsi manusia serta tidak mencemari lingkungan (Hagen dan Offerhaus 2008). Pengendalian dengan fag dapat dilakukan pada kondisi sebelum panen (prapanen) dengan strategi terapi fag dan setelah panen (pascapanen) dengan strategi biosanitasi, biokontrol dan biopreservasi (Garcia *et al.* 2008). Pengendalian *L. monocytogenes* dan *Listeria* spp. lebih banyak dilakukan pada kondisi pascapanen mengingat sifat-sifat dari bakteri ini yang mampu hidup pada suhu penyimpanan 4°C dan kemampuannya membentuk biofilm pada peralatan selama pengolahan.

Beberapa peneliti telah melakukan pengendalian terhadap *L. monocytogenes* pada tahap pascapanen pada beberapa produk

pangan dan strateginya dalam aplikasi fag spesifik *Listeria*. Calton *et al.* (2005) melaporkan bahwa fag P100 mampu mereduksi kontaminasi *L. monocytogenes* pada proses pematangan keju lunak. Fag P100 juga efektif mereduksi *L. monocytogenes* pada filet catfish segar (Soni *et al.* 2009) dan filet salmon segar (Soni dan Nannapaneni 2010). Fag spesifik *L. monocytogenes* A511 efektif mereduksi *L. monocytogenes* pada berbagai jenis pangan siap santap (Guenther *et al.* 2009) dan juga efektif pada proses pematangan keju lunak (Guenther dan Loessner 2011). Fag LM-103 dan LMP-102 mampu mereduksi *L. monocytogenes* pada buah melon dan apel potong segar dan kemampuan tersebut lebih meningkat ketika dikombinasikan dengan nisin (Leverentz *et al.* 2003).

Penelitian terkait fag spesifik *Listeria* dan juga aplikasinya pada produk hasil perikanan terutama udang di Indonesia belum pernah dilaporkan. Pengujian kemampuan fag spesifik *Listeria* pada udang diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat terkait dengan efektivitas dari fag spesifik *Listeria* serta model aplikasinya dalam pemanfaatan fag sebagai biokontrol. Penelitian ini bertujuan untuk mendemonstrasikan kemampuan fag litik *Listeria* (FL03) dalam menginfeksi kontaminasi *L. grayi* (BA03) pada matrik udang selama penyimpanan pada suhu ruang (± 28 °C) dan suhu dingin (± 4 °C).

METODE

Metode pelaksanaan berisi tentang bahan, alat, metode, pelaksanaan penelitian, analisis data, dan lain-lain.

Bahan

Listeria grayi BA03 digunakan sebagai bakteri inang. Isolat bakteri dipelihara dalam media *tryptic soy agar yeast extract* (TSAye, Oxoid) agar miring yang disimpan pada suhu

4°C tidak melebihi 2 bulan dan dikultur kembali pada media *trytic soy broth yeast extract* (TSBye, Oxoid) pada suhu 37°C selama 18 sampai 24 jam sebelum digunakan. Jumlah kultur sediaan bakteri ditentukan dengan metode pelemptangan total (Maturin and Peeler 2001). Fag yang digunakan dalam penelitian ini yaitu fag litik spesifik *L. grayi* FL03. Partikel fag *Listeria* dipelihara dalam media *brain heart infusion* (BHI, Oxoid) dan disimpan dalam larutan penyangga SM pada suhu 4°C tidak melebihi 6 bulan, dan dikultur kembali pada media BHI pada suhu 37°C selama 24 jam sebelum digunakan. Titer fag *Listeria* ditentukan menggunakan metode *Double Layer Agar* (Yousefi dan Zazouli 2008). Udang segar yang digunakan sebagai matrik bahan percobaan diperoleh dari Pasar Modern di Bogor, dibawa ke Laboratorium dengan menggunakan boks berisi es dan selanjutnya disimpan pada suhu ±4 °C sampai digunakan.

Alat

Alat yang digunakan yaitu cawan petri (Duran), pipet mikro (Gilson), *vortex mixer* (Vortex-Genie2), *fume hood*, *laboratory water bath* dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM, model JSM-5310LV).

Persiapan matrik udang dan inokulasi bakteri inang

Sampel udang segar dibuang kepala dan

kulitnya. Penelitian ini diawali dengan persiapan matrik udang dan inokulasi bakteri inang pada matrik udang. Kemudian diberi perlakuan fag spesifik *Listeria* dan disimpan pada suhu yang berbeda. Setelah waktu inkubasi 0, 1, 24 dan 48 jam dilakukan perhitungan jumlah bakteri kemudian dicuci dan dihancurkan dengan *blender* sampai menjadi bubur. Sampel udang ditimbang masing-masing ± 2 g dan dimasukkan ke dalam botol sampel dan diratakan permukaannya. Tiga puluh dua buah sampel udang dalam botol disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Seratus mikroliter kultur *L. grayi* dalam TSBye umur semalam dengan kepadatan bakteri $1,3 \times 10^7$ CFU mL⁻¹ ditetaskan merata pada permukaan sampel udang. Selanjutnya dibiarkan pada suhu ruang (±28 °C) selama ±15 menit agar kultur menempel pada permukaan sampel udang

Perlakuan fag spesifik *Listeria* dan suhu penyimpanan

Pada permukaan sampel udang ditetaskan suspensi fag FL03 sebanyak 200 µL dengan konsentrasi sebesar $1,5 \times 10^8$ PFU mL⁻¹ dengan desain seperti pada Tabel 1. Kemudian dibiarkan dalam ruang terbuka selama 15 menit agar terjadi interaksi antara bakteri dengan fag. Selanjutnya botol disimpan pada suhu ruang (± 28 °C, Sr) dan suhu dingin (± 4 °C, Sd). Semua perlakuan diulang sebanyak 2 kali.

Tabel 1. Desain percobaan

Perlakuan / ulangan	Waktu pengamatan			
	Jam ke 0	Jam ke 1	Jam ke 24	Jam ke 48
Tanpa penambahan fag <i>Listeria</i> (K)				
Suhu ruang (Sr)	KSr-0 ₁	KSr-1 ₁	KSr-24 ₁	KSr-48 ₁
	KSr-0 ₂	KSr-1 ₂	KSr-24 ₂	KSr-48 ₂
Suhu dingin (Sd)	KSd-0 ₁	KSd-1 ₁	KSd-24 ₁	KSd-48 ₁
	KSd-0 ₂	KSd-1 ₂	KSd-24 ₂	KSd-48 ₂
Dengan penambahan fag <i>Listeria</i> (F)				
Suhu ruang (Sr)	FSr-0 ₁	FSr-1 ₁	FSr-24 ₁	FSr-48 ₁
	FSr-0 ₂	FSr-1 ₂	FSr-24 ₂	FSr-48 ₂
Suhu dingin (Sd)	FSd-0 ₁	FSd-1 ₁	FSd-24 ₁	FSd-48 ₁
	FSd-0 ₂	FSd-1 ₂	FSd-24 ₂	FSd-48 ₂

Perhitungan jumlah bakteri

Perhitungan jumlah *L. grayi* untuk masing-masing unit percobaan dilakukan pada selang waktu penyimpanan 0, 1, 24 dan 48 jam dengan metode pelempekan total (Maturin dan Peeler 2001). Masing-masing unit perlakuan dibuat seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-7} dengan menggunakan *buffer pepton water* 0.1% (BPW, Oxoid). Sebanyak 100 μL dari masing-masing seri pengenceran ditebarkan pada cawan steril kemudian ditambahkan media TSAye bersuhu ± 40 °C secara aseptis dan cawan diputar agar merata pada seluruh permukaan. Setelah 24 jam inkubasi pada suhu 37 °C, kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada cawan yang mengandung antara 30 – 300 koloni, hasilnya dikalikan dengan faktor pengenceran untuk penentuan jumlah koloni (CFU g^{-1}). Analisis pelempekan total dilakukan secara duplo.

Pengamatan lisis bakteri dengan SEM

Untuk membuktikan adanya kerusakan atau lisis dari *L. grayi* dilakukan pengamatan menggunakan SEM. Pengamatan dilakukan pada sampel kontrol tanpa perlakuan fag FL03 dan matrik udang yang diberi perlakuan penambahan fag FL03 yang disimpan pada suhu dingin (± 4 °C) selama 24 jam. Pengamatan dilakukan di Laboratorium Zoologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, dilakukan menggunakan peralatan SEM model JSM-5310LV dengan ACCV 20 kV dan perbesaran 10 000 X.

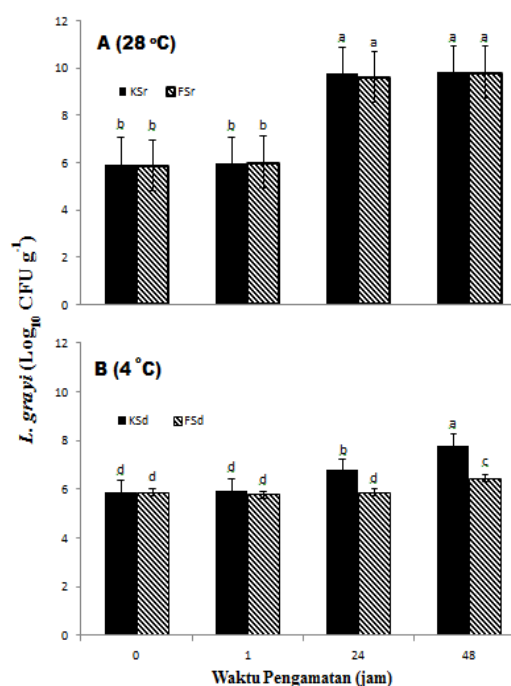
Analisa data

Data \log_{10} CFU g^{-1} dari setiap perlakuan dianalisis menggunakan sidik ragam dua jalur (two-way analysis of variance) dengan bantuan Program Statistik SAS versi 9.1 (SAS Inc, USA). Analisis ini bertujuan untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan di antara berbagai perlakuan yang diterapkan. Jika hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan signifikan, maka langkah selanjutnya adalah melakukan uji Duncan multiple range test (DMRT) dengan taraf

signifikansi $\alpha = 5\%$. Uji DMRT ini digunakan untuk membandingkan rata-rata antar perlakuan secara lebih mendetail, sehingga dapat diketahui perlakuan mana yang memberikan efek paling signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian terhadap jumlah *L. grayi* (\log_{10} CFU mL^{-1}) selama 48 jam pada suhu ± 28 dan ± 4 °C dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Pertumbuhan *L. grayi* BA03 (\log_{10} CFU g^{-1}) pada udang yang diberi perlakuan fag *Listeria* FL03 pada suhu 28 °C (A) dan 4 °C (B) selama 48 jam

Pada suhu penyimpanan ± 28 °C, tidak menunjukkan adanya perbedaan di antara perlakuan yang disebabkan pemberian fag *Listeria* FL03 pada semua waktu pengamatan ($P > 0,05$), $\text{KSr}0^b = \text{FSr}0^b$, $\text{KSr}1^b = \text{FSr}1^b$, $\text{KSr}24^a = \text{FSr}24^a$, $\text{KSr}48^a = \text{FSr}48^a$. Pada suhu penyimpanan ± 4 °C, menunjukkan adanya perbedaan di antara perlakuan yang disebabkan pemberian fag *Listeria* FL03 pada waktu pengamatan 24 dan 48 jam ($P < 0,05$), $\text{KSd}24^b > \text{SFd}24^d$ dan $\text{KSd}48^a > \text{FSd}48^c$,

tetapi tidak menunjukkan adanya perbedaan ($P > 0,05$) pada waktu pengamatan jam ke 1 ($KSd1^d = FSd1^d$). Jumlah *L. grayi* tidak mengalami penurunan selama waktu penyimpanan 1 jam, sementara terjadi penurunan jumlah *L. grayi* sebesar 0,93 dan 1,37 \log_{10} CFU mL^{-1} pada waktu penyimpanan 24 dan 48 jam, berturut-turut, bila dibandingkan dengan kontrol. Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan mempengaruhi kemampuan fag *Listeria* FL03 dalam menghambat pertumbuhan *L. grayi* BA03. Hasil tersebut berbeda dengan penemuan yang dilaporkan oleh Soni *et al.* (2009) yaitu kontak waktu 15 menit antara fag P100 dengan *Listeria monocytogenes* menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri sebesar 0,8 \log_{10} CFU g^{-1} yang berbeda nyata dengan kontrol ($P > 0,05$). Demikian juga Soni dan Nannapaneni (2010) menyatakan bahwa jumlah bakteri dapat turun dengan adanya perlakuan fag dengan kontak waktu 15 menit yaitu sebesar antara 1,9 – 3,0 \log_{10} CFU g^{-1} .

Hasil penelitian ini memperlihatkan adanya interaksi antara pemberian fag *Listeria* FL03 dengan suhu penyimpanan ± 4 °C dalam mempengaruhi penurunan jumlah *L. grayi* selama masa penyimpanan. Pada suhu ± 4 °C, tanpa adanya perlakuan fag *Listeria* FL03, pertumbuhan *L. grayi* dapat ditekan hingga 2,01 – 2,98 \log_{10} CFU g^{-1} selama masa penyimpanan 48 jam. Penghambatan tersebut dapat meningkat dengan adanya penambahan fag *Listeria* FL03 menjadi sebesar 3,38 – 3,76 \log_{10} CFU g^{-1} . Kebalikan dengan penemuan dari Soni *et al.* (2009), bahwa semakin tinggi suhu penyimpanan kemampuan fag P100 dalam mereduksi *L. monocytogenes* menjadi lebih tinggi, yaitu 1,4 – 2,0; 1,7 – 2,1 dan 1,6 – 2,3 \log_{10} CFU g^{-1} pada suhu 4, 10 dan 22 °C, berturut-turut. Demikian juga hasil penemuan Soni dan Nannapaneni (2010) memperlihatkan bahwa efektivitas fag P100 dalam media kaldu tidak dipengaruhi oleh suhu (4, 10 dan 30°C), sedangkan pada matrik filet salmon pada suhu 22 °C penurunan jumlah *L. monocytogenes* lebih tinggi bila dibandingkan pada 4 °C. Sementara hasil

penelitian Guenther *et al.* (2009) menunjukkan kemampuan fag A511 tidak dipengaruhi oleh suhu dalam mereduksi *L. monocytogenes* pada pangan siap saji.

Selama kondisi fag tetap stabil dalam kurun waktu penyimpanan maka kemampuan fag untuk menghambat pertumbuhan bakteri tetap dapat berlangsung (Soni *et al.* 2009; Soni dan Nannapaneni 2010). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sampai waktu penyimpanan 48 jam, fag *Listeria* FL03 masih mampu menghambat pertumbuhan *L. grayi* BA03 yaitu sebesar 1,37 \log_{10} CFU mL^{-1} bila dibandingkan dengan kontrol. Soni *et al.* (2009) melaporkan bahwa perlakuan fag P100 pada sampel filet *catfish* masih mampu menurunkan jumlah *L. monocytogenes* sampai hari ke 10 pada suhu ± 4 °C sebesar 5,2 \log_{10} CFU g^{-1} . Demikian juga dengan Soni dan Nannapaneni (2010) menyatakan bahwa penurunan jumlah *L. monocytogenes* disebabkan perlakuan fag P100 pada sampel filet salmon mentah pada masa penyimpanan 10 hari dengan suhu penyimpanan ± 4 °C mencapai 2,3 \log_{10} CFU g^{-1} .

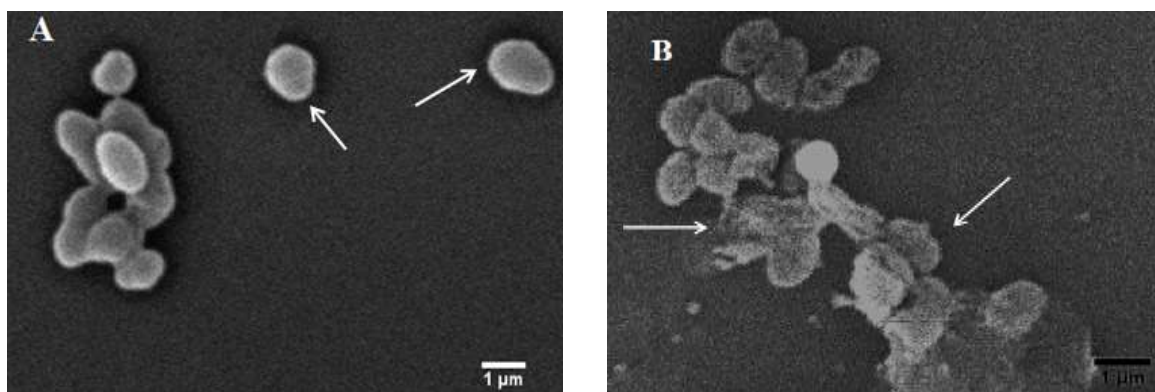
Efektivitas fag dalam mereduksi bakteri inang dipengaruhi oleh titer fag yang diberikan dan jumlah inokulasi bakteri awal. Penghambatan pertumbuhan *L. grayi* oleh adanya perlakuan fag *Listeria* FL03 pada penelitian ini sebesar 1,36 \log_{10} CFU g^{-1} relatif masih kecil bila dibandingkan dengan peneliti terdahulu (Carlton *et al.* 2005; Soni *et al.* 2009; Soni dan Nannapaneni 2010, Guenther dan Loessner 2011). Hal ini disebabkan adanya perbedaan rasio antara dosis fag yang diberikan dengan bakteri awal yang diinokulasikan. Semakin tinggi dosis fag yang diberikan maka semakin efektif dalam mereduksi bakteri inang. Carlton *et al.* (2005) melaporkan bahwa dosis $1,5 \times 10^8$ PFU mL^{-1} fag P100 dapat menurunkan jumlah *L. monocytogenes* sebesar $\pm 2,0 - 3,0 \log_{10}$ CFU g^{-1} dengan inokulasi bakteri awal sebesar $6,0 \times 10^3$ CFU mL^{-1} pada sampel pematangan keju lunak, sementara dengan dosis fag yang lebih tinggi yaitu $3,0 \times 10^9$ PFU mL^{-1} pertumbuhan *L. monocytogenes* dapat dihambat secara komplit. Soni *et al.* (2009) mendemonstrasikan penurunan jumlah

bakteri *L. monocytogenes* yang disebabkan penambahan fag P100 paling tinggi terjadi pada konsentrasi fag sebesar 10^9 PFU mL⁻¹ yang diikuti dosis 10^7 PFU mL⁻¹, sementara dosis 10^5 PFU mL⁻¹ tidak menunjukkan adanya penurunan dengan inokulasi awal *L. monocytogenes* sebesar 2.0×10^4 CFU g⁻¹. Soni dan Nannapaneni (2010) melaporkan bahwa pemberian dosis 10^5 PFU mL⁻¹ fag P100 belum menunjukkan penurunan jumlah *L. monocytogenes* dalam 2 jam setelah inokulasi *L. monocytogenes* sebesar $1,0 \times 10^4$ CFU g⁻¹. Selanjutnya dengan peningkatan dosis fag P100 sebesar 10^6 , 10^7 , 10^8 dan 10^9 PFU mL⁻¹, penurunan jumlah *L. monocytogenes* juga semakin meningkat yaitu sebesar 0,5; 1,2; 2,0, dan 3,5 log₁₀ CFU g⁻¹, berturut-turut. Demikian juga Guenther dan Loessner (2011) melaporkan bahwa dosis fag A511 $1,0 \times 10^9$ PFU cm⁻² dapat menurunkan populasi *L. monocytogenes* sebesar 3,0 log CFU cm⁻², dibanding dengan dosis $3,0 \times 10^8$ PFU cm⁻² yang hanya mampu menurunkan populasi sebesar 2,5 log CFU cm⁻². dengan inokulasi awal sebesar 10^3 CFU cm⁻² pada keju *read-smear*. Lebih lanjut dijelaskan oleh Dykes and Moorhead (2002) bahwa distribusi yang relatif jarang dari partikel fag (~1 partikel fag/10³ sel bakteri)

tidak menurunkan jumlah *L. monocytogenes* pada sampel daging mentah yang diberi perlakuan fag LH7 dengan konsentrasi sebesar $3,0 \times 10^3$ PFU mL⁻¹.

Kemampuan fag dalam mereduksi bakteri juga tergantung pada konsentrasi awal dari bakteri target (Leverentz *et al.* 2003; Soni *et al.* 2010). Leverentz *et al.* (2003) melaporkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0.05$) dalam penurunan jumlah *L. monocytogenes* antara konsentrasi awal sebesar 10^5 dengan 10^6 CFU mL⁻¹ yang diperlakukan dengan campuran fag LM-103 dan LMP-102 dengan konsentrasi sebesar $5,0 \times 10^7$ PFU mL⁻¹. Soni *et al.* (2010) berpendapat bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dalam penurunan jumlah *L. monocytogenes* dengan konsentrasi awal sebesar 2,0; 3,0; dan 4,0 log₁₀ CFU g⁻¹ dapat turun sebesar 1,9; 2,9 dan 3,5 log₁₀ CFU g⁻¹, berturut-turut., ketika diberi perlakuan fag P100 dosis 10^8 PFU mL⁻¹.

Fag *Listeria* FL03 mampu menginfeksi *L. grayi* pada matrik udang dan menyebabkan lisisnya bakteri. Kondisi morfologi lisisnya bakteri dapat dilihat menggunakan SEM. Hasil pengamatan morfologi *L. grayi* menggunakan SEM dengan perbesaran 10 000 kali dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Pengamatan morfologi *L. grayi* BA03 dengan SEM pada perbesaran 10.000 X; A: *L. grayi* BA03 pada perlakuan kontrol, anak panah menunjukkan morfologi yang utuh; B: *L. grayi* BA03 pada perlakuan dengan fag *Listeria* FL03 penyimpanan 24 jam pada suhu 4 °C, anak panah menunjukkan kondisi lisis dari *L. grayi*

Pada Gambar 2A terlihat bahwa morfologi *L. grayi* pada perlakuan kontrol menunjukkan bentuk yang utuh dan tidak mengalami kerusakan. Hal ini menunjukkan

bahwa tanpa perlakuan tambahan, bakteri *L. grayi* tetap mempertahankan struktur morfologinya. Sebaliknya, pada Gambar 2B, terlihat jelas adanya kerusakan pada

morfologi *L. grayi* atau kondisi lisis dari bakteri tersebut. Kerusakan ini terjadi pada sampel matrik pangan udang yang diberi perlakuan fag *Listeria* FL03 dan disimpan selama 24 jam pada suhu penyimpanan 4°C. Perlakuan dengan fag *Listeria* FL03 ini tampaknya efektif dalam menginduksi lisis pada bakteri *L. grayi*, yang ditunjukkan oleh perubahan morfologi yang signifikan dibandingkan dengan kontrol.

Secara keseluruhan fag *Listeria* FL03 mampu menghambat pertumbuhan *L. grayi* walaupun belum dapat mereduksi *L. grayi* dalam jumlah besar bila dibandingkan dengan awal inokulasi. Oleh karena itu untuk menunjukkan kemampuan dari fag *Listeria* FL03 dalam mereduksi *L. grayi* perlu dilakukan percobaan lebih lanjut dengan berbagai konsentrasi pemberian fag dan juga berbagai konsentrasi awal dari inokulasi bakteri inang agar diperoleh rasio yang tinggi antara fag FL03 dengan bakteri inang *L. grayi* BA03.

KESIMPULAN

Fag litik *Listeria* (FL03) mampu menghambat pertumbuhan *L. grayi* (BA03) pada matrik udang yang dipengaruhi oleh suhu penyimpanan. Hasil penelitian membuktikan bahwa dengan perlakuan penambahan fag FL03 akan menghambat pertumbuhan *L. grayi* bila dibandingkan dengan kontrol sebesar 0 – 0,15 dan 0,93 – 1,37 log₁₀ CFU g⁻¹ pada suhu ±28 °C dan ±4 °C, berturut-turut. Penghambatan tersebut akan meningkat dengan adanya interaksi antara fag FL03 dengan suhu penyimpanan ±4 °C menjadi 3,38 – 3,76 log₁₀ CFU g⁻¹. Untuk aplikasi lebih lanjut dalam meningkatkan kemampuan dari fag FL03 diperlukan rasio yang lebih tinggi antara dosis fag FL03 dengan konsentrasi awal *L. grayi*.

DAFTAR PUSTAKA

Carlton, R., Noordman, W., Biswas, B., De Meester, E., & Loessner, M. (2005). Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods:

Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 43(3), 301-312.

- Dykes, G., & Moorhead, S. (2002). Combined antimicrobial effect of nisin and a listeriphage against *Listeria monocytogenes* in broth but not in buffer or on raw beef. *International Journal of Food Microbiology*, 73(1), 71-81.
- Food and Drug Administration (FDA). (2013). Food drug administration import refusal report [Internet]. <http://www.accessdata.fda.gov>
- Garcia, P., Martinez, B., Obeso, J. M., & Rodriguez, A. (2008). Bacteriophage and their application in food safety. *Letters in Applied Microbiology*, 47(6), 479-485.
- Guenther, S., & Loessner, M. J. (2011). Bacteriophage biocontrol of *Listeria monocytogenes* on soft ripened white mold and red-smear cheese. *Bacteriophage*, 1(2), 94-100.
- Guenther, S., Huwyler, D., Richard, S., & Loessner, M. J. (2009). Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(1), 93-100. <https://doi.org/10.1128/AEM.01711-08>
- Hagens, S., & Offerhaus, M. L. (2008). Bacteriophages—New weapons for food safety. *Food Technology*, 4(8), 46-54.
- Klump, J., & Loessner, M. J. (2013). *Listeria* phages: Genomes, evolution, and application. *Bacteriophage*, 3(3), 1-8. <https://doi.org/10.4161/bact.26861>
- Leverentz, B., Conway, W. S., Camp, M. J., Janisiewicz, W. J., Abuladze, T., Yang, M., Saftner, R., & Sulakvelidze, A. (2003). Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), 4519-4526.

- Maturin, L. J., & Peeler, J. T. (2001). Bacteriological analytical manual: Aerobic plate count. In Jackson et al. (Eds.), *United States of America: Food and Drug Administration*.
- Md.Rokibul, H., Mrityunjoy, A., Eshita, D., Kamal, K. D., Tasnia, A., Muhammad, A. A., Kazi, K. F., & Rashed, N. (2013). Microbiological study of sea fish samples collected from local markets in Dhaka city. *International Food Research Journal*, 20(3), 1491-1495.
- Soni, K. A., & Nannapaneni, R. (2010). Bacteriophage significantly reduces *Listeria monocytogenes* on raw salmon fillet tissue. *Journal of Food Protection*, 73(1), 32-38.
- Soni, K. A., Nannapaneni, R., & Hagens, S. (2009). Reduction of *Listeria monocytogenes* on the surface of fresh channel catfish fillets by bacteriophage Listex P100. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(4), 427-434. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0432>
- Wong, F., Jiang, L., Yang, Q., Han, F., Chen, S., Pu, S., Vance, A., & Ge, B. (2011). Prevalence and antimicrobial susceptibility of major foodborne pathogens in imported seafood. *Journal of Food Protection*, 74(9), 1451-1461. <https://doi.org/10.4315/0362.02bX.JFP-11-146>
- Yousefi, Z., & Zazouli, M. A. (2008). Evaluation of bacteriophage methods for detection and isolation of viruses from surface water. *World Applied Science Journal*, 3(2), 317-322.