

KONTAMINASI *Staphylococcus aureus* DAN *Bacillus cereus* PADA SUSYI DI TINGKAT RITEL DI WILAYAH JABODETABEK

Yusma Yennie^{1,2}, Ratih Dewanti-Hariyadi^{1,3*}, Harsi Dewantari Kusumaningrum¹, Achmad Poernomo⁴

¹Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, IPB University, Bogor

²Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jalan KS Tubun, Petamburan VI, Jakarta Pusat, DKI Jakarta

³Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFAST) Center, Jalan Ulin No. 1 Gedung SEAFAST Center, Kampus IPB Dramaga Bogor

⁴Politeknik Ahli Usaha Perikanan (AUP), Jalan Raya Pasar Minggu, Jakarta

Diterima: 15 Juli 2022/Disetujui: 26 Agustus 2022

*Korespondensi: ratihde@apps.ipb.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Yennie, Y., Dewanti-Hariyadi, R., Kusumaningrum, H. D., & Poernomo, A. (2022). Kontaminasi *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* pada Susyi di Tingkat Ritel di Wilayah Jabodetabek. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(2), 331-344. <http://dx.doi.org/10.17844/jphphi.v25i2.42066>

Abstrak

Susyi adalah pangan siap konsumsi asal Jepang, merupakan kombinasi nasi yang diberi asam dan ikan mentah. Umumnya susyi terdiri dari beberapa jenis, namun terdapat dua jenis susyi yang sangat dikenal yaitu nigiri (nasi dengan ikan mentah di atasnya) dan maki (nasi dengan ikan mentah di dalamnya). Ikan dalam susyi tidak mengalami pemanasan sehingga rentan terhadap kontaminasi patogen, di antaranya *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*. Kedua bakteri ini telah dilaporkan sebagai penyebab Kejadian Luar Biasa (KLB) di Indonesia, namun keberadaannya di dalam susyi belum pernah dilaporkan. Penelitian bertujuan untuk menentukan prevalensi dan tingkat kontaminasi *S. aureus* dan *B. cereus* pada susyi di tingkat ritel di wilayah Jabodetabek (Jakarta, Bogor, Depok, Tangerang, dan Bekasi). Sebanyak 120 sampel terdiri dari nigiri (n=57) dan maki (n=63) diperoleh dari ritel di Jabodetabek. Identifikasi dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dengan target gen *nuc* (*S. aureus*) dan *gyrB* (*B. cereus*). Jumlah bakteri menggunakan metode lempeng sebar (*spread plate*) untuk *S. aureus* dan Angka Paling Mungkin (APM) untuk *B. cereus*. Prevalensi *S. aureus* (7,5%) di dalam susyi lebih besar dibandingkan *B. cereus* (5%). Tingkat kontaminasi *S. aureus* ($8,9 \times 10^2$ - $1,5 \times 10^5$ koloni/g) juga lebih tinggi dibandingkan *B. cereus* (9,2-93 APM/g). *S. aureus* lebih sering ditemukan dalam maki (9,5%), sementara *B. cereus* lebih banyak ditemukan pada nigiri (7,1%). Susyi dengan ikan salmon memiliki prevalensi *S. aureus* (9,3%) dan *B. cereus* (5,3%) lebih tinggi dibandingkan dengan tuna. Kontaminasi *S. aureus* kemungkinan karena kurang terpenuhinya hygiene personal, sementara *B. cereus* dapat berasal dari penanganan nasi yang kurang baik dan sanitasi lingkungan yang kurang memadai. Keberadaan *S. aureus* di dalam susyi lebih berpotensi menyebabkan risiko keracunan pangan dibandingkan *B. cereus*. Program hygiene personal dalam produksi susyi harus ditingkatkan untuk memberi jaminan keamanan.

Kata kunci: *Bacillus cereus*, prevalensi, *Staphylococcus aureus*, susyi, tingkat kontaminasi

Contamination of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in Sushi at Retail Level in Jabodetabek Area

Abstract

Sushi is a ready-to-eat food from Japan, consisting of acidified rice in combination with raw seafood. Generally, sushi consists of several types, however there are two types of sushi that are very well known, namely nigiri (rice with raw fish on top) and maki (raw fish rolled in rice). The fish, not subjected to any heat treatment, is susceptible to pathogens, i.e., *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. These pathogens have been reported as the causes of outbreaks in Indonesia, but the presence of these two pathogens in sushi has not been reported. This study aims to determine the prevalence and level of the two pathogens in sushi at retail in the Greater Jakarta area (Jakarta, Bogor, Depok, Tangerang, and Bekasi). A total of 120 samples

consisting of nigiri (n=57) and maki (n=63) were obtained from retailers in the Greater Jakarta area. The identification was carried out by Polymerase Chain Reaction (PCR) method, with the target *nuc* gene (*S. aureus*) and *gyrB* (*B. cereus*). The contamination level was calculated using the spread plate method for *S. aureus* and the Most Probable Number (MPN) method for *B. cereus*. The prevalence of *S. aureus* (7.5%) in sushi was greater than in *B. cereus* (5%). The contamination level of *S. aureus* (8.9×10^2 - 1.5×10^5 CFU/g) was also higher than *B. cereus* (9.2-9.3 MPN/g). *S. aureus* was more common in maki (9.5%), while *B. cereus* was more common in nigiri (7.1%). Sushi made with salmon had a higher prevalence of *S. aureus* (9.3%) and *B. cereus* (5.3%) than those made with tuna. Contamination of *S. aureus* might be caused by a lack of personal hygiene, while *B. cereus* might result from poor handling of rice and inadequate environmental sanitation. The presence of *S. aureus* in sushi is more likely to cause the risk of food poisoning than *B. cereus*. The personal hygienic program in sushi production needs improvement to better assure its safety.

Keywords: *Bacillus cereus*, level of contamination, prevalence, *Staphylococcus aureus*, sushi

PENDAHULUAN

Susyi adalah pangan siap konsumsi asal Jepang yang terdiri dari nasi yang diberi asam dan bahan pangan mentah yang umumnya dari hasil perikanan (Liang *et al.*, 2016). Pada umumnya susyi terdiri dari beberapa jenis, namun terdapat dua jenis susyi yang sangat dikenal yaitu nigiri (nasi dengan ikan mentah di atasnya) dan maki (nasi lapis nori yang digulung dengan ikan dan bahan lain di dalamnya) (Feng, 2012). Akhir-akhir ini susyi yang dikenal sebagai makanan yang kaya nutrisi, menjadi pangan siap konsumsi populer di Indonesia terutama di kota-kota besar seperti Jakarta dan sekitarnya. Hasil penelusuran melalui situs tempat penjualan daring Zomato pada tahun 2019 menunjukkan sebanyak 297 outlet susyi berada di wilayah Jabodetabek (Jakarta, Bogor, Depok, Tangerang, dan Bekasi), yang terdiri dari restoran, supermarket, dan kios.

Susyi adalah pangan siap konsumsi (*ready-to-eat/RTE food*) yang mengandung ikan yang tidak mengalami proses pemanasan sehingga rentan terhadap kontaminasi oleh bakteri patogen. Selain itu pembuatan susyi umumnya dilakukan secara manual sehingga banyak bersentuhan tangan pekerja maupun alat pengguling yang dipakai berulang memberi peluang kontaminasi dari praktik pekerja dan atau peralatan yang tidak saniter.

Staphylococcus aureus dan *Bacillus cereus* adalah bakteri patogen yang telah dilaporkan menyebabkan gangguan kesehatan melalui konsumsi pangan. Kontaminasi kedua bakteri ini di dalam bahan pangan telah dilaporkan menyebabkan kejadian luar biasa (KLB). Berdasarkan data BPOM tahun 2020

Indonesia terdapat 45 KLB penyakit bawaan pangan dengan 3.276 orang terpapar yang menyebabkan 1.528 orang sakit dan 6 orang meninggal dunia. Hasil studi Arisanti *et al.* (2018) menunjukkan bahwa dari 175 laporan KLB di Indonesia antara 2000-2015, 18,3% dan 19,4% diantaranya berturut-turut disebabkan oleh *S. aureus* dan *B. cereus*.

S. aureus merupakan bakteri Gram positif yang tidak membentuk spora, tidak tahan panas, namun mampu beradaptasi dengan baik pada kondisi lingkungan yang buruk (Dewanti-Hariyadi 2021). Gen *nuc* adalah gen spesifik yang digunakan untuk identifikasi *S. aureus* dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) karena diketahui mampu membedakan *S. aureus* dengan *Staphylococcus* spp. lainnya (Canning *et al.*, 2020; Sahebnaasagh *et al.*, 2014). *S. aureus* dapat mengontaminasi bahan pangan selama penanganan dan pengolahan terutama melalui aktivitas penjamah pangan karena merupakan sumber penyebaran terutama di bagian kulit, rambut dan saluran pernapasan. *S. aureus* dapat menyebabkan keracunan pangan melalui produksi enterotoksin yang dikenal dengan *Staphylococcal Enterotoxin* (SE). Beberapa hasil studi menunjukkan bahwa keracunan *S. aureus* paling sering berasal dari penjamah pangan. Higiene penjamah pangan yang kurang bersih selama penanganan dan pengolahan pangan, diikuti dengan penyimpanan pangan di kondisi (suhu dan waktu) yang tidak tepat memungkinkan bakteri ini bermultiplikasi dan memproduksi toksin (Argud'in *et al.*, 2010). KLB di Indonesia karena *S. aureus* dilaporkan terjadi di Desa Banjaroyo, Kulon Progo, Yogyakarta

pada tahun 2014 yang menyebabkan sebanyak 170 orang sakit setelah mengonsumsi masakan catering (Nuraisyah, 2019). Suarjana & Agung (2013) juga melaporkan bahwa *S. aureus* adalah salah satu patogen penyebab keracunan pangan di SDN Sangeh, Badung, Bali.

B. cereus adalah bakteri Gram positif yang membentuk spora dan tersebar di lingkungan tanah, perairan, tumbuhan, hewan, serta mampu bertahan pada kondisi stres misalnya pemanasan, dehidrasi, radiasi (Kumari & Sarkar, 2016; Ramarao *et al.*, 2020). Gen girase B (*gyrB*) adalah gen yang menyandikan subunit protein B pada DNA girase (topoisomerase tipe II), yang penting dalam proses replikasi DNA. Gen ini merupakan target gen dengan spesifisitas tinggi yang dapat membedakan bakteri *B. cereus* dengan grup *B. cereus* spp. dan digunakan dalam analisis filogenetik (Yamada *et al.*, 1999). Selain itu Yamada *et al.* (1999) menjelaskan, gen *gyrB* berperan penting dalam replikasi DNA dan memiliki region lestari yang berguna dalam pengembangan primer spesifik pada metode PCR. Bakteri ini diketahui dapat tumbuh dalam pangan yang telah diolah panas dan dilanjutkan dengan proses pendinginan yang lambat. Hal ini memberikan peluang spora bakteri yang tahan panas bergerminasi menjadi sel vegetatif dan memproduksi toksin emetik ataupun enterotoksin (Houška *et al.*, 2007). *B. cereus* dapat mengontaminasi pangan mentah, misalnya ikan (Doménech-Sánchez *et al.*, 2011) dan pangan yang mengandung pati, misalnya nasi (Martinelli *et al.*, 2013). *B. cereus* juga dapat tumbuh di pangan yang berasam rendah, karena spora bakteri ini tahan terhadap asam (Ceuppens *et al.*, 2012). Keracunan pangan karena *B. cereus* di Indonesia dilaporkan menyebabkan 21 orang murid SDN 1 Trasan, Bandongan, Magelang menderita sakit setelah mengonsumsi pangan jajanan anak sekolah pada tahun 2016 (Ahmad *et al.* 2018).

Beberapa studi menunjukkan bahwa susyi adalah salah satu pangan yang dikaitkan dengan gangguan kesehatan yang disebabkan oleh bakteri patogen, misalnya *B. cereus*, *S. aureus*, *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* (Centers for Disease Control and Prevention

[CDCP], 2012; New South Wales Food Authority [NSWFA], 2008; Tirloni *et al.*, 2017). Prevalensi *S. aureus* dan *B. cereus* di dalam susyi di Thailand dilaporkan berturut-turut sebesar 29,6% dan 4,8% (Tiengtip, 2020), di Australia sebesar 0,2% dan 0,9% sehingga dianggap berpotensi membahayakan kesehatan (NSWFA, 2008). Sementara itu, Yap *et al.* (2019) menyebutkan terdapatnya prevalensi *B. cereus* di dalam susyi di ritel di Singapura sebesar 5,1%. Di Indonesia, prevalensi patogen, misalnya *S. aureus* dan *B. cereus* di dalam susyi belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan prevalensi dan tingkat kontaminasi bakteri *S. aureus* dan *B. cereus* di dalam susyi di tingkat ritel di wilayah Jabodetabek dalam upaya proteksi kepada konsumen terkait jaminan keamanan pangan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah susyi (nigiri dan maki), isolat bakteri *S. aureus* ATCC 29213 dan *B. cereus* ATCC 14579. Media analisis yang digunakan meliputi *Butterfield's Phosphate Buffered* (Oxoid, Inggris), *Baird Parker Agar* (BPA) (Oxoid, Inggris), *egg yolk tellurite* (Oxoid, Inggris), *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid, Inggris), *Trypticase Soy Polymyxin* (TSP) (Oxoid, Inggris), *Mannitol Egg Yolk Polymyxin* (MYP) (Oxoid, Inggris), *DNA TIANamp genomic DNA kit* (Tiangen, China), *DreamTaq Hot Start Green PCR Master Mix* (Thermo Scientific, AS), *nuclease free water* (Thermo Scientific, AS), *SYBR gold nucleic acid gel stain* (Invitrogen, AS). Alat analisis yang digunakan adalah *coolbox* (Igloo, AS), *thermoblock* (Biometra, Jerman), neraca analitik (Ohouse, AS), *stomacher* (Seward, Inggris), inkubator (Mettler, Jerman), *biosafety cabinet class II* (Esco, Singapura), mikropipet (Eppendorf, Jerman), *microplate 12 wells* (Biologix, China), alat mikrosentrifuga (Beckman Coulter, AS), *thermal cycler* (Biorad, AS), *PCR chamber* (Plas Lab, AS), perangkat elektroforesis (Biorad, AS), perangkat visualisasi hasil elektroforesis (Biometra Herolab, Jerman).

Pengambilan sampel susyi

Susyi umumnya dijual di restoran Jepang, pasar swalayan, dan kios (*foodstall*) baik di pusat perbelanjaan maupun yang memiliki lokasi tersendiri. Sampel susyi diperoleh dari 98 restoran, 6 pasar swalayan, dan 7 kios di wilayah Jabodetabek (DKI Jakarta, Bogor, Depok, Tangerang, dan Bekasi). Jumlah sampel yang dianalisis adalah 120 buah yang terdiri dari nigiri ($n=57$) dan maki ($n=63$), yang dibuat dengan ikan tuna atau salmon. Susyi diambil secara aseptis, ditempatkan di dalam plastik steril untuk disimpan ke dalam *coolbox* dan suhunya dipertahankan pada $\pm 4^{\circ}\text{C}$ dengan penambahan es selama dalam perjalanan sampai tiba di laboratorium untuk dianalisis. Sampel susyi dianalisis dalam waktu 12 jam setelah pengambilan sampel.

Identifikasi dan enumerasi *S. aureus*

Identifikasi dan enumerasi *S. aureus* mengacu pada SNI 2332.9 (Badan Standardisasi Nasional [BSN] 2015) dengan modifikasi pada tahap konfirmasi. Sampel sebanyak 25 g ditambahkan ke dalam 225 mL larutan *Butterfield's Phosphate Buffered* (BPB) (Oxoid, Inggris) dan dihomogenisasikan dengan *stomacher* 200 rpm; 1 menit. Untuk enumerasi dilakukan serial pengenceran pada homogenat (1:10, 1:100, 1:1.000, dan seterusnya). Sebanyak 1 mL homogenat, yang dibagi menjadi 3 bagian, yaitu 0,3; 0,3 dan 0,4 mL dari masing-masing serial pengenceran. Homogenat diinokulasikan ke cawan petri yang berisi *Baird Parker Agar* (BPA) (Oxoid, Inggris) yang ditambah *egg yolk tellurite* (Oxoid, Inggris) dengan metode lempeng sebar dan diinkubasikan pada suhu 35°C selama 48 jam. Koloni tipikal *S. aureus* pada media BPA berbentuk bulat, berwarna hitam dengan zona bening di sekitar koloni. Sebanyak 3-5 koloni tipikal diinokulasikan ke dalam media agar *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid, Inggris) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam, dilanjutkan dengan uji koagulase. Konfirmasi *S. aureus* dari isolat terduga dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan mengadaptasi Brakstad *et al.* (1992) dengan target gen *nuc*.

Identifikasi dan enumerasi *B. cereus*

Identifikasi *B. cereus* mengacu pada SNI ISO 21871 (BSN 2017) dengan modifikasi di tahap konfirmasi (Sandra *et al.*, 2012). Sampel sebanyak 25 g ditambahkan ke dalam 225 mL larutan *Trypticase Soy Polymyxin* (TSP) (Oxoid, Inggris) dan dihomogenisasikan dengan *stomacher* 200 rpm; 1 menit. Homogenat diinkubasikan pada suhu 30°C selama 48 jam. Sebanyak 1 ose suspensi sampel diinokulasikan ke dalam media agar *Mannitol Egg Yolk Polymyxin* (MYP) (Oxoid, Inggris) lalu diinkubasikan pada suhu 30°C selama 24 jam. Sebanyak 3-5 koloni tipikal *B. cereus* (berwarna kuning dengan zona bening di sekeliling koloni) digunakan untuk uji konfirmasi dengan metode PCR yang menarget gen *gyrB*. Enumerasi *B. cereus* dilakukan dengan metode APM dengan seri 3 tabung pada setiap pengenceran (Tallent *et al.*, 2019). Untuk enumerasi, sebanyak 25 g sampel ditambahkan ke dalam 225 mL larutan TSP dan dihomogenisasikan dengan *stomacher* 200 rpm; 1 menit. Selanjutnya dilakukan serial pengenceran (10^1 , 10^2 , 10^3) dan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 48 jam. Homogenat yang memberi kekeruhan pada tabung pengencer, dipindahkan ke media agar MYP dan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 24 jam. Koloni terduga *B. cereus* dikonfirmasi dengan metode PCR dengan target gen *gyrB* dan jumlah bakteri dihitung dengan menggunakan tabel APM dan dinyatakan dalam APM/g.

Konfirmasi *S. aureus* dan *B. cereus*

Konfirmasi *S. aureus* dan *B. cereus* dilakukan dengan PCR. DNA genom dari isolat tipikal diisolasi menggunakan protokol kit ekstraksi DNA *TIANamp genomic DNA kit* (Tiangen, China). Amplifikasi DNA hasil ekstraksi dilakukan dengan primer spesifik terhadap gen *nuc* dan *gyrB* berturut-turut untuk *S. aureus* dan *B. cereus* (Tabel 1).

Amplifikasi DNA dilakukan dalam volume akhir 25 μL , yang terdiri dari campuran reaktan 12,5 μL *DreamTaq Hot Start Green PCR Master Mix* (Thermo Scientific, AS), masing-masing 1 μL primer gen *nuc* dan *gyrB* (*forward* dan *reverse*), 1 μL DNA sampel, dan

Tabel 1 Urutan nukleotida primer dan protokol yang digunakan dalam analisis PCR

Gen	Primer	Sekuens	Produk PCR	Protokol	Referensi
	<i>nuc</i> F	GCGATTGATGGTGATACGGTT		95°C, 300 det; 30 siklus (95°C, 60 det; 55°C, 60 det; 72°C, 600 det)	Brakstad <i>et al.</i> (1992)
<i>nuc</i>	<i>nuc</i> R	AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC	127bp		
	<i>gyrB</i> F	TCATGAAGAGCCTGTGTACG		94°C, 180 det; 35 siklus (94°C, 45 det; 63°C, 60 det; 72°C, 600 det)	Sandra <i>et al.</i> (2012)
<i>gyrB</i>	<i>gyrB</i> R	CGACGTGTCAATTCACGCGC	475bp		

9,5 µL *nuclease free water* (Thermo Scientific, AS). Terhadap produk PCR dilakukan elektroforesis gel (tegangan 100 V; kuat arus 50 mA) menggunakan 1,5% gel agarosa dan bufer TBE1X selama 35 menit, selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan SYBR *gold nucleic acid gel stain* (Invitrogen, AS) dan divisualisasikan dengan transiluminator UV (Biorad, AS). Untuk uji konfirmasi digunakan *S. aureus* ATCC 29213 dan *B. cereus* ATCC 14579 sebagai kontrol positif.

Analisis Data

Data identifikasi dan enumerasi bakteri *S. aureus* dan *B. cereus* diolah menggunakan

Microsoft Office Excel dan dianalisis secara deskriptif. Hasil analisis data ditampilkan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN Keberadaan dan Tingkat Kontaminasi *S. aureus* di Dalam Susyi

Secara keseluruhan, prevalensi *S. aureus* dalam sampel susyi pada penelitian ini adalah 7,5% (9/120) (Tabel 2). Prevalensi *S. aureus* dalam susyi pada penelitian ini lebih rendah dari yang pernah dilaporkan Kim *et al.* (2011) di Korea (54,6%), di Klang Valley, Malaysia (21,5%) (Puah *et al.*, 2016), 16,7% di Antalya, Turki (Yalçın & Çakmak, 2020),

Tabel 2 Frekuensi isolasi *S. aureus* dan *B. cereus* pada ritel susyi di wilayah Jabodetabek

Sampel susyi	Outlet	Jumlah sampel	Jumlah sampel (%) yang terkonfirmasi	
			<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>
Nigiri	Restoran	46	3 (6,5)	4 (8,7)
	Kios	8	0 (0)	0 (0)
	Pasar swalayan	3	0 (0)	0 (0)
Maki	Restoran	52	5 (9,6)	2 (3,9)
	Kios	9	1 (11,1)	0 (0)
	Pasar swalayan	2	0 (0)	0 (0)
Total		120	9 (7,5)	6 (5,0)

dan 40% di Universitas Thammasat, Thailand (Tientip, 2020). Hal ini menunjukkan bahwa kontaminasi *S. aureus* pada susyi sering terjadi karena bakteri ini lazim ditemukan pada manusia yang bersentuhan langsung dalam pembuatan susyi.

S. aureus dalam sampel susyi pada penelitian ini dikonfirmasi dengan primer yang menarget gen *nuc*, yaitu gen spesifik untuk produksi *extracellular thermostable nuclease* (*thermonuclease/Tnase*) yang memiliki karakter yang sama dengan galur penghasil koagulasi (Brakstad *et al.*, 1992). Gen ini telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi *S. aureus* dengan metode PCR baik untuk sampel klinis maupun pangan (Brakstad *et al.*, 1992; Madison & Baselski, 1983). Brakstad *et al.* (1992) melaporkan bahwa gen *nuc* terkonfirmasi pada seluruh sampel positif *S. aureus* berdasarkan reaksi biokimia. Puah *et al.* (2016) melaporkan sebanyak 21,5% (32/149) sampel susyi yang dijual di ritel di Malaysia, terkonfirmasi *S. aureus* berdasarkan kepemilikan gen *nuc*. Sahebnaasagh *et al.* (2014) menyatakan bahwa sebanyak 101 dari 126 (80,2%) isolat *S. aureus* dari sampel klinis pasien empat rumah sakit di Tehran, Iran terkonfirmasi memiliki gen *nuc*. Selanjutnya hasil penelitian Sahebnaasagh *et al.* (2014) menjelaskan bahwa sebanyak 87 dari 126 sampel yang positif gen *nuc* terdeteksi positif gen *mecA* yang menyandi galur *S. aureus* resisten metisilin (*methicillin-resistant S. aureus/MRSA*). Hal ini menunjukkan bahwa *S. aureus* yang memiliki gen *nuc* berpotensi virulen, seperti halnya *S. aureus* diisolasi dari susyi pada penelitian ini. *S. aureus* merupakan bakteri oportunistik dengan spektrum infeksi yang luas mulai dari infeksi kulit hingga penyakit dengan keparahan serius (Kadariya *et al.*, 2014).

Kontaminasi dari *S. aureus* sering dihubungkan dengan pekerja (penjamah pangan) karena permukaan kulit dan hidung manusia adalah habitat hidup *S. aureus*. Hasil studi Yap *et al.* (2019) menunjukkan prevalensi *S. aureus* pada pekerja yang menyiapkan susyi, dengan dan tanpa menggunakan sarung tangan, berturut-turut sebesar 2,6% (6/227) dan 21,7% (28/129). Yap *et al.* (2019) menjelaskan bahwa tangan

penjamah pangan tanpa sarung tangan memberikan peluang kontaminasi silang lebih tinggi di sepanjang pengolahan susyi. Hal ini ditunjukkan dengan lebih tingginya frekuensi isolasi *S. aureus* dari sampel penjamah pangan yang tidak menggunakan sarung tangan sebesar 30% (18/60) dibandingkan dengan sarung tangan yaitu 8,3% (10/120) dan *S. aureus* yang terkonfirmasi tersebut adalah galur yang memiliki SE. Selain itu Yap *et al.* (2019) menyebutkan, praktik mencuci tangan dengan sabun dan mengeringkan tangan menggunakan pengering serta mengganti sarung tangan secara berkala selama penyiapan susyi, menunjukkan frekuensi isolasi *S. aureus* yang rendah (0%). Kontaminasi *S. aureus* di dalam susyi juga dapat disebabkan oleh kontaminasi silang antar bahan penyusun susyi, selama proses preparasi dan penjamahan, suhu dan waktu, kondisi sanitasi lingkungan pengolahan, higiene penjamah pangan dan konsumen sebelum susyi dikonsumsi (Batista *et al.*, 2017; Kadariya *et al.*, 2014; Tientip, 2020).

Pada penelitian frekuensi maki terkontaminasi *S. aureus* 9,5% (n=64) lebih tinggi dibandingkan nigiri yaitu 5,3% (n=56) (Tabel 3). Maki disebut juga *sushi roll*, adalah nasi yang digulung dan dilapis dengan nori dengan ikan di dalamnya. Penggunaan peralatan misalnya alat penggulung susyi dan tangan pekerja kemungkinan adalah penyebab lebih tingginya tingkat kontaminasi *S. aureus* pada maki. Hal ini pernah dilaporkan oleh Kim *et al.* (2011), di mana prevalensi kimbab (makanan asal Korea yang menyerupai maki) lebih tinggi dibandingkan dengan susyi jenis nigiri yaitu 6,3% (n=975).

Berdasarkan jenis ikan yang digunakan, *S. aureus* sebesar 9,3% (n=75) pada susyi dengan ikan salmon dan 4,4% (n=45) pada susyi dengan ikan tuna. Keberadaan *S. aureus* pada hasil perikanan yang pernah dilaporkan dari beberapa hasil studi berada pada rentang 9%-87% (Vaiyapuri *et al.*, 2019). *S. aureus* bukan merupakan mikroflora normal pada hasil perikanan. Keberadaannya dalam produk ikan dapat disebabkan oleh terkontaminasinya hasil perikanan selama penanganan sejak ikan ditangkap atau dipanen, pengolahan, transportasi, ritel, dan sebelum dikonsumsi

Tabel 3 Prevalensi *S. aureus* dan *B. cereus* pada sampel susyi berdasarkan jenis ikan

Jenis ikan	Tipe susyi	Jumlah sampel	Jumlah sampel (%) yang terkonfirmasi	
			<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>
Salmon	Nigiri	34	2 (5,9)	3 (8,8)
	Maki	41	5 (12,2)	1 (2,4)
Tuna	Nigiri	22	1 (4,5)	1 (4,5)
	Maki	23	1 (4,3)	1 (4,3)
Total		120	9 (7,5)	6 (5)

(Puah *et al.*, 2017; Vaiyapuri *et al.*, 2019). Pada penelitian ini diketahui bahwa susyi yang berbahan ikan salmon memiliki frekuensi isolasi lebih tinggi dibandingkan dengan ikan tuna. Hasil ini serupa dengan penelitian Liang *et al.* (2016) yaitu sebanyak 30% (n=120) ikan salmon yang digunakan untuk susyi di Hong Kong terkonfirmasi *S. aureus*. Tiengtip (2020) juga menemukan di restoran di Universitas Thamsat, Thailand bahwa kontaminasi *S. aureus* di dalam sasyimi ikan salmon lebih tinggi dibandingkan ikan tuna yaitu 11,4% dan 8,6% (n=35).

Tingkat kontaminasi *S. aureus* dalam 9 sampel susyi adalah $8,9 \times 10^2$ - $1,5 \times 10^5$ koloni/g (Tabel 4). Tingkat kontaminasi tertinggi ditemukan pada sampel maki salmon dan sebanyak 8 sampel memiliki tingkat kontaminasi $>10^3$ koloni/g. Di Indonesia, persyaratan keamanan pangan siap konsumsi untuk parameter *S. aureus* belum diatur secara spesifik. Namun Peraturan Badan POM no 13 tahun 2019 menyebutkan untuk

kategori pangan ikan dan produk perikanan, persyaratan jumlah *S. aureus* berada pada rentang 10^2 - 10^3 koloni/g. Di beberapa negara, persyaratan *S. aureus* di dalam pangan siap konsumsi (*RTE food*) telah diatur, misalnya di China, Australia dan Selandia Baru persyaratan *S. aureus* untuk pangan susyi adalah $<10^4$ koloni/g. Tingkat kontaminasi $>10^4$ koloni/g di dalam pangan siap konsumsi, dikategorikan berpotensi membahayakan kesehatan manusia (*potential hazard*) (Food and Environmental Hygiene Department, 2014; Food Standards Australia New Zealand, 2016). *S. aureus* di dalam pangan adalah salah satu patogen penyebab penyakit bawaan pangan. Bakteri ini mampu memproduksi toksin (enterotoksin) di dalam pangan saat jumlah sel $>10^5$ koloni/g yang dikenal dengan SE. Toksin ini bersifat stabil dan resisten pada suhu tinggi dan kondisi lingkungan berupa pembekuan dan pengeringan. Karakteristik toksin *S. aureus* yang stabil terhadap suhu tinggi merupakan salah satu ancaman yang

Tabel 4 Tingkat kontaminasi *S. aureus* pada sampel susyi

No	Tipe susyi	Outlet	Tingkat kontaminasi (koloni/g)
1	Nigiri salmon	Restoran	$1,5 \times 10^3$
2	Nigiri salmon	Restoran	$3,6 \times 10^3$
3	Nigiri tuna	Restoran	$1,3 \times 10^4$
4	Maki salmon	Restoran	$1,4 \times 10^5$
5	Maki salmon	Restoran	$3,2 \times 10^4$
6	Maki salmon	Restoran	$7,9 \times 10^3$
7	Maki salmon	Restoran	$1,2 \times 10^3$
8	Maki salmon	Kios	$2,8 \times 10^3$
9	Maki tuna	Restoran	$8,9 \times 10^2$

signifikan bagi industri pangan (Balaban & Rasooly, 2000; Hennekinne *et al.*, 2012; Kadariya *et al.*, 2014). *Staphylococcal Enterotoxin A* (SEA) adalah toksin yang paling umum ditemukan di pangan yang terkontaminasi *S. aureus* dan menjadi penyebab penyakit bawaan pangan. Di Amerika Serikat, kasus kejadian luar biasa yang disebabkan oleh SEA sebesar 77,8%, sementara itu di Jepang, Inggris Raya, dan Perancis, kejadian luar biasa yang disebabkan oleh SEA juga merupakan kasus yang paling sering ditemukan (Argud'in *et al.*, 2010). Di Osaka, Jepang tahun 2016 dilaporkan kejadian luar biasa yang menyebabkan 15 pasien mengalami sakit setelah mengonsumsi pangan, salah satunya adalah susyi (Umeda *et al.*, 2017). Penelitian yang dilaporkan Umeda *et al.* (2017) menyebutkan bahwa terdapat kontaminasi *S. aureus* pada pangan yang dikonsumsi (susyi, salad kentang, dan sayuran mentah) dengan konsentrasi $>10^6$ koloni/g dan diketahui memproduksi SE. Kontaminasi diduga berhubungan dengan praktik penjamah pangan yang tidak higienis saat penyiapan makanan dan penyimpangan suhu saat penyimpanan pangan yang mendukung pertumbuhan *S. aureus*. Selain itu kontaminasi silang antar pangan saat penyiapan pangan diduga sebagai penyebab keberadaan *S. aureus*.

Pada penelitian ini terdapat satu sampel yang memiliki tingkat kontaminasi $>10^5$ koloni/g dan kemungkinan dapat memproduksi SE. Vazquez *et al.* (2012) menyebutkan bahwa penyimpanan pada suhu yang tidak sesuai dapat memungkinkan terbentuknya SE. Laporan Pedro *et al.* (2004) menunjukkan penghilangan garam pada proses penggaraman ikan cod yang dilakukan pada suhu 20°C, meningkatkan jumlah sel *S. aureus* sampai $\geq 10^6$ koloni/g yang memungkinkan terjadinya pembentukan toksin. Dengan demikian kontaminasi *S. aureus* dalam susyi yang dijual di tingkat ritel berpotensi menyebabkan keracunan pangan dan berisiko pada konsumen.

Keberadaan dan Tingkat Kontaminasi *B. cereus* di Dalam Susyi

B. cereus ditemukan dalam 6 dari 120 sampel susyi (5%) (Tabel 2) dalam penelitian ini. Berbeda dengan *S. aureus*, kontaminasi *B. cereus* lebih sering ditemukan pada nigiri 7,1% (n=56) dibandingkan dengan maki 3,1% (n=64). Frekuensi isolasi *B. cereus* pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan hasil penelitian di negara lain. Fang *et al.* (2003) melaporkan *B. cereus* ditemukan pada 29,9% dari sampel susyi (n=47) di ritel di Taiwan, Muscolino *et al.* (2014) melaporkan frekuensi isolasi 7,9% pada susyi ritel (n=38) di Italia, Batista *et al.* (2017) melaporkan keberadaan patogen ini pada 22,2% dari sampel susyi (n=36) di restoran Jepang di Brasil, sementara Hwang & Park (2015) melaporkan 25,7% susyi ritel (n=105) di Korea Selatan terkontaminasi *B. cereus*.

B. cereus dikonfirmasi berdasarkan kepemilikan gen girase B (*gyrB*) yang menyandikan subunit protein B pada DNA girase (topoisomerase tipe II), yang penting dalam proses replikasi DNA. Gen ini digunakan dalam analisis filogenetik dan taksonomi Grup *B. cereus* spp. termasuk *B. cereus* karena bersifat universal dan merupakan gen lestari (Yamada *et al.*, 1999). Hwang & Park (2015) serta Kim & Chang (2020) juga mengonfirmasi *B. cereus* berdasarkan gen *gyrB*.

Keberadaan *B. cereus* di dalam susyi kemungkinan disebabkan karena bakteri ini sering ditemukan dalam nasi yang merupakan komponen penting dalam susyi (60-80%) (Đorđević dan Buchtová, 2020). Lebih tingginya prevalensi *B. cereus* pada susyi jenis nigiri, juga mungkin disebabkan karena jumlah nasi pada nigiri lebih banyak daripada maki. Sandra *et al.* (2012) melaporkan prevalensi *B. cereus* pada nasi putih di Malaysia adalah 76,2% (n=115). Ia juga menjelaskan bahwa kontaminasi *B. cereus* dapat disebabkan karena penanganan beras mentah yang kurang baik pada saat proses pencucian dan kemampuan spora bertahan pada saat pemasakan nasi. Suhu

penyimpanan susyi yang tidak sesuai ($>5^{\circ}\text{C}$) dapat memberikan peluang spora *B. cereus* untuk bergerminasi menjadi sel vegetatif (Todar, 2009). Untuk negara yang beriklim tropis seperti Indonesia, peluang keberadaan *B. cereus* pada pangan karena penyimpanan suhu cukup besar.

B. cereus juga memiliki galur yang dapat tumbuh dan bermetabolisme di suhu rendah ($<7^{\circ}\text{C}$) yang dikenal dengan *B. cereus* psikrotropik. Galur ini umumnya mengontaminasi pangan yang menggunakan rantai dingin selama pengolahan dan penyimpanan sebelum dikonsumsi (Huck *et al.*, 2007; Larsen *et al.*, 1997; Park *et al.*, 2020; Samie *et al.*, 2012). Grup *B. cereus* psikrotoleran umumnya terdeteksi di tanah, susu, es krim, produk susu, salad. Penyimpanan susyi yang umumnya dilakukan pada suhu rendah dapat mendukung galur ini. Galur *B. cereus* psikrotoleran membawa gen toksin (*nheACD* dan *hblACD*) yang berasosiasi dengan penyebab diare dan diketahui memproduksi toksin HBL dan NHE (Kovac *et al.*, 2016; Miller *et al.*, 2016; Miller *et al.*, 2018).

Ikan salmon dan tuna yang sering digunakan di dalam susyi juga dapat terkontaminasi *B. cereus*. Pada penelitian ini frekuensi isolasi *B. cereus* dalam susyi ikan salmon 5,3% ($n=75$) dan susyi ikan tuna 4,4% ($n=45$) untuk ikan tuna (Tabel 3). Hasil penelitian lain menyebutkan bahwa kontaminasi *B. cereus* terdeteksi di tingkat *unsatisfactory* sebesar 4,92% ($n=61$) dalam sasyimi yang berbahan baku ikan salmon dan tuna (Miguéis *et al.*, 2015). Kim *et al.* (2017) juga melaporkan *B. cereus* dalam ikan tuna

($n=30$) di Korea Selatan sebesar 43,3%.

B. cereus adalah bakteri patogen oportunistik pembentuk spora penyebab diare dan sindrom emetik yang telah menyebabkan berbagai KLB (Schoeni & Wong, 2005). Haque *et al.* (2021) melaporkan KLB global akibat kontaminasi *B. cereus* di dalam berbagai jenis pangan selama rentang waktu 20 tahun terakhir (2000-2020). Beberapa pangan yang dikaitkan dengan KLB tersebut meliputi pangan mentah berbahan dasar ikan, sapi, unggas, beras, sayur, buah, susu dan produk olahannya, produk olahan berbahan beras, pasta, hingga pangan siap konsumsi misalnya susyi, salad, bahkan air susu ibu (ASI). Kejadian luar biasa akibat kontaminasi *B. cereus* di dunia adalah 1,4-12% (Grutsch *et al.*, 2018). Kejadian luar biasa *B. cereus* pernah dilaporkan oleh Depo *et al.* (2018) yang menyebabkan 22/55 orang sakit dengan gejala muntah dan diare setelah mengonsumsi produk olahan ikan sarden di wilayah Gunung Kidul, Yogyakarta pada tahun 2017.

B. cereus dapat menyebabkan penyakit bawaan pangan apabila jumlahnya mencukupi. Bakteri ini bila berjumlah $>10^5$ koloni/g dapat memproduksi toksin yang dapat menyebabkan diare dan sindrom emetik. Pada penelitian ini, enam sampel susyi yang terkonfirmasi *B. cereus* memiliki tingkat kontaminasi 9,2-93 APM/g (Tabel 5). Tingkat kontaminasi penelitian lebih rendah dibandingkan dengan laporan Yu *et al.* (2020) di pangan siap konsumsi (*RTE food*) di China, Sandra *et al.* (2012) di produk nasi (*RTE cooked rice*) di ritel di Malaysia, dengan tingkat kontaminasi >1100 APM/g dan berpotensi menyebabkan penyakit bawaan pangan.

Tabel 5 Tingkat kontaminasi *B. cereus* pada sampel susyi

No	Tipe susyi	Outlet	Tingkat kontaminasi (MPN/g)
1	Nigiri salmon	Restoran	9,2
2	Nigiri salmon	Restoran	15,0
3	Nigiri salmon	Restoran	93,0
4	Nigiri tuna	Restoran	23,0
5	Maki tuna	Restoran	14,0
6	Maki salmon	Restoran	23,0

Persyaratan keamanan untuk parameter *B. cereus* di dalam pangan siap konsumsi belum diatur di Indonesia. Berdasarkan Peraturan Badan POM no 13 tahun 2019, persyaratan tingkat kontaminasi *B. cereus* terdapat pada pangan berbasis sereal dan pati berada di rentang 10^1 - 10^4 koloni/g, rempah 10^4 - 10^5 koloni/g, dan produk untuk kebutuhan bayi 10^1 - 10^2 koloni/g. Negara China, Australia dan Selandia Baru mengatur batas maksimal konsentrasi *B. cereus* di dalam pangan siap konsumsi (*RTE food*) adalah $>10^5$ koloni/g (Food and Environmental Hygiene Department, 2014; Food Standards Australia New Zealand, 2016). Oleh karena itu tingkat kontaminasi *B. cereus* dalam susyi ditingkat ritel di wilayah Jabodetabek aman dari risiko penyakit akibat *B. cereus*.

Prevalensi *S. aureus* dan *B. cereus*. di dalam susyi yang merupakan pangan siap konsumsi, menunjukkan bahwa penanganan bahan penyusun susyi, proses pengolahan, perilaku penjamah pangan, peralatan dan lingkungan, serta adanya penyimpangan suhu dapat menjadi sumber kontaminasi.

KESIMPULAN

Kontaminasi *S. aureus* dan *B. cereus* dalam susyi di tingkat ritel di wilayah Jabodetabek lebih rendah daripada yang pernah dilaporkan oleh penelitian sebelumnya di negara lain. *S. aureus* di dalam susyi lebih sering ditemukan (7,5%) dibandingkan *B. cereus* (5%) dan tingkat kontaminasi *S. aureus* lebih tinggi ($8,9 \times 10^2$ - $1,5 \times 10^5$ koloni/g) daripada *B. cereus* (9,2-93 APM/g). Berdasarkan tingkat kontaminasinya, *S. aureus* berpotensi menyebabkan risiko keracunan pangan dibandingkan *B. cereus* di dalam susyi di tingkat ritel di Jabodetabek. Kontaminasi *S. aureus* kemungkinan berasal dari penerapan higiene personal yang kurang memadai, sehingga peningkatan program higiene personal diharapkan dapat meningkatkan jaminan keamanan susyi terkait *S. aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, N., Isworo, A., & Indriani, C. (2018). Kejadian luar biasa keracunan "cumi-cumian" di sekolah dasar negeri 1 Trasan Bandongan Kabupaten Magelang. *Media Ilmu Kesehatan*, 7(2), 131-136.
- Argud'in, M. A., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Review: Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2, 1751-1773.
- Arisanti, R. R., Indriani, C., & Wilopo, S. A. (2018). Kontribusi agen dan faktor penyebab kejadian luar biasa keracunan pangan di Indonesia: kajian sistematis. *Berita Kedokteran Masyarakat*, 34(3), 99-106.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2019). Batas maksimal cemaran mikroba dalam pangan olahan. https://standarpangan.pom.go.id/dokumen/peraturan/2019/PerBPOM_No_13_Tahun_2019_tentang_Batas_Maksimal_Cemaran_Mikrobiologi.pdf.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2020). Laporan Tahunan Badan Pengawas Obat Dan Makanan 2020. https://www.pom.go.id/new/files/2021/LAPTAH2020/BPOM/LaporanTahunan_2020_Badan_Pengawas_Obat_dan_Makanan.pdf.
- Badan Standardisasi Nasional. (2015). SNI 2332.9: 2015 Cara uji mikrobiologi Bagian 9: Penentuan *Staphylococcus aureus* pada produk perikanan.
- Badan Standardisasi Nasional. (2017). SNI ISO 21871:2017. Mikrobiologi bahan pangan dan pakan-Metode horizontal untuk penentuan *Bacillus cereus* terduga dalam jumlah sedikit-Teknik angka paling mungkin dan metode deteksi.
- Balaban, N., & Rasooly, A. (2000). *Staphylococcus enterotoxins*. *International Journal of Food Microbiology*, 61(1),1-10.
- Batista, C. M., Ribeiro, M. L. R., De Souza, M. J. F., Borges, L. J., Ferreira, C. T. A. P., & Andre, C. P. A. (2017). Microbiological and physicochemical qualities of sushi and sashimi from japanese restaurants in Brazil. *Journal of Food and Nutrition Research*, 5,729-735.
- Brakstad, O. G., Aasbakk, K., & Maeland J. A. (1992). Detection of *Staphylococcus aureus* by PCR amplification of the nuc gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 1654-1660.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2012). Multistate outbreak of *Salmonella*

- bareilly* and *Salmonella nchanga* infections associated with a raw scraped ground tuna product (final update). <http://www.cdc.gov/salmonella/bareilly-04-12/index.html>.
- Canning, B., Mohamed, I., Wickramasinghe, N., Swindells, J., & O'Shea, M. K. (2020). Thermonuclease test accuracy is preserved in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Journal of Medical Microbiology*, 69, 548–551.
- Ceuppens, S., Uyttendaele, M., Hamelink, S., Boon, N., & Van de Wiele, T. (2012). Inactivation of *Bacillus cereus* vegetative cells by gastric acid and bile during in vitro gastrointestinal transit. *Gut Pathogens*, 4(11), 1–7.
- Depo, M., Dewi, F., & Aryanto, S. (2018). *Bacillus cereus* contamination of donated food for an orphanage in Gunung Kidul district, Indonesia, 2017. Proceedings of “9th TEPHINET Bi-regional Conference” Lao PDR, 2018.
- Dewanti-Hariyadi, R. (2021). Mikrobiologi Keamanan Pangan. PT Penerbit IPB Press.
- Doménech-Sánchez, A., Laso, E., José Pérez, M., & Berrocal, C. I. (2011). Emetic disease caused by *Bacillus cereus* after consumption of tuna fish in a beach club. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(7), 835–837.
- Đorđević, Đ., & Buchtová, H. (2020). Nutritional profile of nigiri sushi meal and the usage of citrate synthase activity as freshness parameter. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 19(6):2954–2969.
- Fang, T. J., Wei, Q-K., Liao, C-W., Hung, M-J., & Wang, T-H. (2003). Microbiological quality of 18°C ready-to-eat food products sold in Taiwan. *International Journal of Food Microbiology*, 80, 241–250.
- Feng, C. H. I. (2012). The tale of sushi: History and regulations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 205–20.
- Food Standards Australia New Zealand. (2016). Compendium of microbiological criteria for food.
- Food and Environmental Hygiene Department. (2014). Microbiological guidelines for food: for ready-to-eat food in general and specific food items.
- Grutsch, A. A., Nimmer, P. S., Pittsley, R. H., & McKillip, J. L. (2018). *Bacillus* spp. as pathogens in the dairy industry: *Foodborne Diseases*. Academic Press, Elsevier Inc.
- Haque, M. A., Khan, A., & He, C. (2021). Feed-borne *Bacillus cereus*: An emerging threat to food chain related hazard, safety and pathogenic potentiality. *Veterinary Pathobiology and Public Health*, 251–269.
- Hennekinne, J-A., De Buyser, M.L., & Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Reviews*, 36(4), 815–836.
- Houška, M., Kýhos, K., Landfeld, A., Průchová, J., Schlemmerová, L., Šmuhařová, H., Špelina, V., & Novotná, P. (2007). Dry heat inactivation of *Bacillus cereus* in rice. *Czech Journal of Food Sciences*, 25(4), 208–213.
- Huck, J. R., Hammond, B. H., Murphy, S. C., & Woodcock, N. H., & Boor, K. J. (2007). Tracking spore-forming bacterial contaminants in fluid milk-processing systems. *Journal of Dairy Science*. 90, 4872–4883.
- Hwang J-Y, & Park J-H. (2015). Characteristics of enterotoxin distribution, hemolysis, lecithinase, and starch hydrolysis of *Bacillus cereus* isolated from infant formulas and ready-to-eat foods. *Journal of Dairy Science*, 98, 1652–1660.
- Kadariya, J., Smith, T. C., & Thapaliya, D. (2014). *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. *BioMed Research International*, 2014, 1–9.
- Kim, N. H., Yun, A. R., & Rhee, M. S. (2011). Prevalence and classification of toxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from refrigerated ready-to-eat foods (sushi, kimbab and California rolls) in Korea. *Journal of Applied Microbiology*, 111(6), 1456–1464.
- Kim, H. W., Hong, Y. J., Jo, J. I., Ha, S. D., Kim, S. H., Lee, H. J., & Rhee, M. S. (2017). Raw ready-to-eat seafood safety: microbiological quality of the various

- seafood species available in fishery, hyper and online markets. *Letters in Applied Microbiology*, 64,27–34.
- Kim, H., & Chang, H. (2020). Detection of emetic *Bacillus cereus* from ready-to-eat foods in markets and its production of cereulide under simulated conditions. *Journal of the Food Service Safety*, 1(1), 9-18.
- Kovac, J., Miller, R. A., Carroll, L. M., Kent, D. J., Jian, J., & Beno, S. M. (2016). Production of hemolysin BL by *Bacillus cereus* group isolates of dairy origin is associated with whole-genome phylogenetic clade. *BMC Genomic*, 17, 581–596.
- Kumari, S., & Sarkar, P. K. (2016). *Bacillus cereus* hazard and control in industrial dairy processing environment. *Food Control*, 69, 20–29.
- Larsen, H. D., & Jørgensen, K. (1997). The occurrence of *Bacillus cereus* in Danish pasteurized milk. *International Journal of Food Microbiology*, 34,179–186.
- Liang, W. L., Pan, Y. L., Cheng, H. L., Li, T. C., Yu, P. H. F., & Chan, S. W. (2016). The microbiological quality of take-away raw salmon finger sushi sold in Hong Kong. *Food Control*, 69, 45–50.
- Madison, B. M., & Baselski, V. S. (1983). Rapid identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures by thermonuclease testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 18, 722–24.
- Martinelli, D., Fortunato, F., Tafuri, S., Cozza, V., Chironna, M., Germinario, C., Pedalino, B., & Prato, R. (2013). Lessons learnt from a birthday party: a *Bacillus cereus* outbreak, Bari, Italy, January 2012. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*, 49(4), 391-394.
- Miguéis, S., Santos, C., Saraiva, C., & Esteves, A. (2015). Evaluation of ready to eat sashimi in northern Portugal restaurants. *Food Control*, 47, 32–6.
- Miller, R. A., Beno, S. M., Kent, D. J., Carroll, L. M., Martin, N. H., & Boor, K. J. (2016). *Bacillus wiedmannii* sp. nov. is a new psychrotrophic and cytotoxic *Bacillus cereus* group species isolated from dairy foods and environments in the USA. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66, 4744–4753.
- Miller, R. A., Jian, J., Beno, S. M., Wiedmann, M., & Kovac, J. (2018). Genomic and phenotypic characterization of type strains and dairy-associated isolates in the *Bacillus cereus* group indicates considerable intra-clade variability in toxin production and cytotoxicity. *Applied and Environmental Microbiology*, 84, 2479–2517.
- Muscolino, D., Giarratana, F., Beninati, C., Tornambene, A., Panebianco, A., & Ziino, G. (2014). Hygienic-sanitary evaluation of susyi and sashimi sold in Messina and Catania, Italy. *Italian Journal of Food Safety*, 3, 134–136.
- NSW Food Authority. (2008). Report on food handling practices and microbiological quality of sushi in Australia.
- Nuraisyah, F. (2019). Penyelidikan kejadian luar biasa keracunan makanan di Desa Banjaroyo Kabupaten Kulon Progo. *Jurnal Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 15(4), 418-425.
- Park, K. M., Kim, H. J., Jeong, M., & Koo, M. (2020). Enterotoxin genes, antibiotic susceptibility, and biofilm formation of low-temperature-tolerant *Bacillus cereus* isolated from green leaf lettuce in the cold chain. *Foods*, 9(3),249:1-14.
- Pedro, S., Albuquerque, M. M., Nunes, M. L., & Bernardo, M. F. (2004). Pathogenic bacteria and indicators in salted cod (*Gadus morhua*) and desalted products at low and high temperatures. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13(3), 39-48.
- Puah, S. M., Chua, K. H., & Tan, J. A. M. A. (2016). Virulence factors and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates in ready-to-eat foods: Detection of *Staphylococcus aureus* contamination and a high prevalence of virulence genes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13, 1-9.
- Puah, S. M., Chua, K. H., & Tan, J. A. M. A. (2017). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* in ready-to-eat sushi and sashimi. *Tropical Biomedicine*, 34, 45–51.

- Ramarao, N., Tran, S-L., Marin, M., & Vidic, J. (2020). Advanced methods for detection of *Bacillus cereus* and its pathogenic factors. *Sensors*, 20, 1-23.
- Sahebnasagh, R., Sadari, H., & Owlia, P. (2013). The prevalence of resistance to methicillin in *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients by PCR method for detection of *mecA* and *nuc* genes. *Iranian Journal of Public Health*, 43(1), 84-92.
- Samie, N., Noghabi, K., Gharegozloo, Z., Zahiri, H., Ahmadian, G., & Sharafi, H. (2012). Psychrophilic α -amylase from *Aeromonas veronii* NS07 isolated from farm soils. *Process Biochemistry*, 47, 1381-1387.
- Sandra, A., Afsah-Hejri, L., Tunung, R., Tuan Zainazor, T. C., Tang, J. Y. H., Ghazali, F. M., Nakaguchi, Y., Nishibuchi, & Son, R. (2012). *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* in ready-to-eat cooked rice in Malaysia. *International Food Research Journal*, 19(3), 829-836.
- Schoeni, J. L., & Lee Wong, A. C. (2005). *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins. *Journal of Food Protection*. 68(3), 636-648.
- Suarjana, I. M., & Agung, A. A. G. (2013). Kejadian luar biasa keracunan makanan (studi kasus di SD 3 Sangheh Kabupaten Badung. *Jurnal Skala Husada*, 10(2), 144-148.
- Tallent, S. M., Knolhoff, A., Rhodehamel, J. R., Harmon, S. M., & Bennett, R. W. (2019). BAM Chapter 14: *Bacillus cereus*. US Food and Drugs Administration. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-14-Bacillus-cereus>.
- Tientip, R. (2020). *Anisakis* spp. parasites and *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* in sushi and sashimi from Thammasat University (Rangsit Campus) area restaurants. *Thammasat Medical Journal*, 20(4), 307-316.
- Tirloni, E., Bernardi, C., Gandolfi, G., Cattaneo, P., & Stella, S. (2017). What happens to the microflora of retail sushi in the warm season? *Journal of Food and Nutrition Research*, 5(2), 95-100.
- Todar, K. (2009). *Bacillus* and related endospore-forming bacteria. <http://www.textbookofbacteriology.net/Bacillus.html>. Diakses: 6 Nopember 2009.
- Umedaa, K., Nakamura, H., Yamamoto, K., Nishinab, N., Yasufukub, K., Hiraia, Y., Hirayama, T., Gotoa, K., Hasea, A., & Ogasawara, J. (2017). Molecular and epidemiological characterization of staphylococcal foodborne outbreak of *Staphylococcus aureus* harboring *seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo*, and *selu* genes without production of classical enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, 256, 30-35.
- Vaiyapuri, M., Joseph, T. C., Rao, B. M., Lalitha, K. V., & Prasad, M. M. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in seafood: Prevalence, laboratory detection, clonal nature, and control in seafood chain. *Journal of Food Science*, 84(12), 3341-3351.
- Vazquez-Sanchez, D., Lopez-Cabo, M., Saa-Ibusquiza, P., & Rodriguez-Herrera, J. J. (2012). Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (northwest Spain). *International Journal of Food Microbiology* 157, 286-296.
- Yalçın, H., & Çakmak, T. (2020). Evaluation of microbiological quality in fresh sushi samples. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 5(1), 1-5.
- Yamada, S., Ohashi, E., Agata, N., & Venkateswaran, K. (1999). Cloning and nucleotide sequence analysis of *gyrB* of *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, and *B. anthracis* and their application to the detection of *Bacillus cereus* in rice. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 1483-1490.
- Yap, M., Chau, M. L., Hartantyo, S. H. P., Oh, J. Q., Aung, K. T., Gutiérrez, R. A., & Ng, L. C. (2019). Microbial quality and safety of sushi prepared with gloved or bare hands: Food handlers' impact on retail food hygiene and safety. *Journal of Food Protection*, 82, 615-622.

Yu, S., Yu, P., Wang, J., Li, C., Guo, H., Liu, C., Kong, L., Yu, L., Wu, S., Lei, T., Chen, M., Zeng, H., Pang, R., Zhang, Y., Wei, X., Zhang, J., Wu, Q., & Ding, Yu. (2020). A Study on prevalence and characterization of *Bacillus cereus* in ready-to-eat foods in China. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1-11.

FIGURE AND TABLE TITLES

Table 1 *The nucleotide sequences of primers and protocol used in PCR analysis*

Table 2 *The isolation frequency of *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* in sushi at retail level in Jabodetabek area*

Table 3 *Prevalence of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in sushi samples based on type of fish*

Table 4 *Level of contamination of *Staphylococcus aureus* in sushi samples*

Table 5 *Level of contamination of *Bacillus cereus* in sushi samples*