

DIAGNOSA VETERINER

Buletin Informasi Kesehatan Hewan & Kesehatan Masyarakat Veteriner

Volume 16, Nomor 3, Tahun 2017



BALAI BESAR VETERINER MAROS

KEMENTERIAN PERTANIAN - DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN DAN KESEHATAN HEWAN

*Jl. DR. Sam Ratulangi, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan
Telp. 0411-371105, Fax. 0411-372257*

E-mail : bbvetmaros@pertanian.go.id, Website: www.bbvet-maros.web.id

KATA PENGANTAR

Diagnosa Veteriner Vol. 16, No. 3, Tahun 2017

Alhamdulillah, segala puji bagi Tuhan Yang Maha Kuasa. Atas rahmat dan karuniaNya Buletin Diagnosa Veteriner Vol. 16, No. 3, Tahun 2017 dapat diterbitkan. Buletin edisi ini kami menyajikan artikel hasil penelitian “Respon Imun Humoral Vaksin Subunit SLPS dan *Brucella* Strain RB51 pada Mencit (*Mus musculus*)”. Artikel kedua yaitu “LPS *Brucella* spp : Struktur, Biosintesis dan Interaksi dengan Sistem Imun Hospes”. Tulisan terakhir adalah “Review Literatur: Sushi dalam Perspektif Kesehatan Masyarakat Veteriner, Sosial Budaya dan Ekonomi”.

Redaksi membuka kesempatan kepada semua pihak yang berkepentingan dengan dunia veteriner dan peternakan untuk menyampaikan ide atau gagasan berupa karya ilmiah populer pengamatan lapangan, hasil penelitian atau review melalui buletin ini.

Redaksi mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca sebagai bahan pembelajaran untuk pengembangan Buletin Diagnosa Veteriner volume selanjutnya.

Maros, 27 Desember 2017

Redaksi

DIAGNOSA VETERINER

Buletin Informasi Kesehatan Hewan dan
Kesehatan Masyarakat

International Standard Serial Number (ISSN) : 0216 – 1486

Volume : 16

No : 3

Tahun : 2017

SUSUNAN REDAKSI

Penanggung Jawab : Kepala Balai Besar Veteriner Maros

Pemimpin Redaksi : Kepala Seksi Informasi Veteriner

Penyunting/ editor : Kepala Bidang Pelayanan Veteriner
drh. Dini Marmansari
drh. Titis Furi Djatmikowati
drh. Hadi Purnama Wirawan, M.Kes

Sekretariat : Suryani Gesha Utami, A.Md
Marwati, S. Sos

DAFTAR ISI

Diagnosa Veteriner Vol. 16, No. 3, Tahun 2017

	Halaman
Kata Pengantar	i
Susunan Redaksi	ii
Daftar Isi	iii
Respon Imun Humoral Vaksin Subunit SLPS dan Brucella Strain RB51 pada Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	1
LPS <i>Brucella</i> spp : Struktur, Biosintesis dan Interaksi dengan Sistem Imun Hospes	5
Review Literatur: Sushi dalam Perspektif Kesehatan Masyarakat Veteriner, Sosial Budaya dan Ekonomi	11

Respon Imun Humoral Vaksin Subunit SLPS dan *Brucella* Strain RB51 pada Mencit (*Mus musculus*)

SaifulAnis

Medik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros

Intisari

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi respon imun humoral *smooth Brucella abortus* lipopolysaccharide (SLPS) sebagai vaksin subunit pada mencit BALB/c. Mencit yang diinjeksi dengan sLPS menghasilkan antibody yang tidak berbeda secara statistik dibandingkan dengan mencit yang divaksinasi dengan vaksin *B. abortus* RB51, immunoglobulin yang dihasilkan didominasi IgG2b diikuti IgG3, IgG2a dan IgG1. Penelitian ini secara keseluruhan, data menunjukkan bahwa vaksin subunit sLPS adalah kandidat vaksin yang cukup baik untuk digunakan dalam penelitian lebih lanjut dalam pengembangan vaksin terhadap brucellosis.

Kata kunci: Brucella abortus, sLPS, vaksin subunit, immunoglobulin.

This study was conducted to evaluate the humoral immune response *Brucella abortus* smooth lipopolysaccharide (SLPS) as a subunit vaccine in BALB / c mice. There is no statistically different in antibody produced between mice vaccinated with SLPS mice vaccinated with *B. abortus* RB51 vaccine, which is produced predominantly IgG2b immunoglobulin followed IgG3, IgG2a and IgG1. This research as a whole, the data indicate that the vaccine subunit vaccine candidates that SLPS are good enough to be used in further research in the development of a vaccine against brucellosis.

Pendahuluan

Brucellosis merupakan salah satu penyakit zoonosis bacterial disebabkan oleh genus *Brucella* yang paling sering menyerang manusia. Bakteri ini merupakan organisme intraseluler fakultatif, Gram negative dan tidak membentuk spora. Berdasarkan variasi antigennya dan hospes utamanya, *Brucella* dapat dikelompokkan ke dalam tujuh spesies yaitu: *Brucella melitensis* (pada domba dan kambing), *B. suis* (babi), *B. abortus* (sapi), *B. ovis* (domba), *B. canis* (anjing), *B. neotomae* (rodensia) dan *B. maris* (mamalia laut) (OIE, 2009; Grillo *et al.*, 2012).

Brucella abortus dapat menginduksi terjadinya abortus secara spontan pada sapi sehingga menimbulkan kerugian ekonomi, oleh karena itu diperlukan upaya pengendalian dan pemberantasan. Pencegahan brucellosis di daerah endemis dilakukan melalui vaksinasi, untuk meminimalisir kerugian ekonomi yang disebabkan oleh abortus, infertilitas, anak yang lemah dan penurunan produksi susu (Avila-Calderón *et al.*, 2013).

LPS merupakan bagian terbesar dari struktur *outer membrane* bakteri Gram negative. LPS merupakan *pathogen associated molecular pattern* (PAMP) yang paling banyak diteliti dari *Brucella*. LPS bersifat sebagai imuno stimulan sangat berpotensi sebagai kandidat vaksin subunit (Simborio *et al.*, 2014).

Lymphocyte B mengatur respon imun humoral pada *adaptive immunity*, ditandai dengan produksi antigen-spesifik antibodi. Selain efek netralisasi, antibodi bertindak sebagai opsonin yang memfasilitasi fagositosis bakteri oleh APCs, komplemen aktif dan meningkatkan antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) oleh makrofag, neutrophil dan sel NK. Pada keadaan tertentu, sel B mempresentasikan antigen yang dapat mengaktivasi imunisasi seluler (Baldwin dan Goenka, 2006).

Meskipun peranan dari imunisasi humoral terhadap infeksi bakteri intraseluler adalah terbatas dan tidak protektif, opsonisasi yang dimediasi oleh antibodi (oleh immunoglobulin IgM, IgG1, IgG2a dan IgG3) meningkatkan fagositosis bakteri pada tingkat infeksi awal infeksi *Brucella* yang berdampak terhadap kelanjutan infeksi intraseluler *Brucella* (Baldwin dan

Goenka, 2006). Dari sudut pandang klinis, deteksi antibodi terhadap Br-LPS secara umum digunakan untuk diagnosa brucellosis pada hewan ternak dan manusia (Al Dahouk et al., 2003).

Pada akhir-akhir ini, penelitian tentang defisiensi sel B pada mencit memberikan gambaran tentang peran regulasi sel B dalam brucellosis, menggambarkan peran kritis respon Th1 pada resistensi hospes. Selama pada fase awal penyakit, sel B memproduksi IL-10 dan transforming growth factor (TGF) β , yang mengatenuasi IFN γ yang dimediasi oleh respon Th1 dan meningkatkan kejadian infeksi persisten (Goenka et al., 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat respon imun humoral yang dipancarkan oleh immunoglobulin IgM, IgG1, IgG2a dan IgG3 vaksin subunit smooth *Brucella abortus* lipopolysaccharide (SLPS) pada mencit.

Materi dan Metode Penelitian

Materi penelitian

Isolat isolat lapang *B. abortus* diperoleh dari Balai Besar Veteriner Maros, vaksin RB51, vaksin subunit LPS *Brucella* dengan adjuvant Al(OH)₃ (SLPS Al(OH)₃) dan vaksin subunit LPS *Brucella* dengan adjuvant Montanide (SLPS montanide), mencit (*Mus musculus*) BALB/C, PBS steril, Elisa Kit Mouse Ig Isotyping Ready-SET-Go![®] catalog number 88-50630, TMB substrat, 1M phosphoric acid, di ethyl ether, crystal violet 0.05%, hydrogen peroxide 3%, dryslide-oxidase, lead acetate paper, methanol, thionin, thionin blue, safranin O, basic fuchsin, sheep Blood Agar, MacConkey Agar, Nutrient Agar, Urea broth/ slope, Serum Dextros Agar microplate dan slope, Dextrose Agar Base.

Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data.

28 ekor mencit (*Mus musculus*) dikelompokkan dalam empat kelompok dengan tiap kelompok terdiri atas tujuh ekor mencit.

Kelompok I sebagai kontrol diinjeksi subkutaneus dengan 0,1 ml NaCl fisiologis steril; kelompok II diinjeksi subkutaneus dengan 0,1 ml SLPS Al(OH)₃ (kandungan SLPS 10 μ g); kelompok III diinjeksi subkutaneus dengan 0,1 ml SLPS montanide (kandungan SLPS 10 μ g); dan kelompok IV diinjeksi subkutaneus dengan 0,1 ml vaksin RB51 mengandung 10⁵ CFU (OIE, 2009).

Serum darah diambil pada hari ke 14 pasca vaksinasi untuk mengetahui tingkat sekresi IgG1, IgG2a, IgG2b dan IgG3. Prosedur anestesi umum dilakukan terlebih dahulu pada mencit sebelum dilakukan pengambilan darah, menggunakan Zoletil[®] dengan dosis 60 mg/kg BB secara intraperitoneal.

Evaluasi respon imun humoral

Evaluasi isotype IgG dalam serum ditentukan menggunakan metode indirect Elisa dengan menggunakan Elisa Kit Mouse Ig Isotyping Ready-SET-Go![®]. Tiap-tiap pengujian dilakukan sesuai dengan protokol manufaktur.

Analisis Data

Data eksperimental yang diperoleh dianalisa menggunakan ANOVA *single factor* untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan, kemudian dilanjutkan dengan *Least Significant Different* (OIE, 2009; Grillo et al., 2012; Jain et al., 2014).

Hasil dan Pembahasan

Evaluasi induksi respon imun humoral menggunakan vaksin subunit SLPS *B. abortus* dengan adjuvant Al(OH)₃ (SLPS Al(OH)₃) dan SLPS *B. abortus* dengan adjuvant montanide (SLPS montanide) pada mencit ditentukan berdasarkan nilai optical density (OD) isotype IgG dengan teknik ELISA. Hasil yang didapatkan sesuai dengan yang diharapkan, nilai OD dari

IgG1, IgG2a, IgG2b dan IgG3 pada kelompok mencit yang divaksinasi menggunakan vaksin subunit SLPS *B. abortus* dengan adjuvant Al(OH)₃ dan montanide tidak berbeda nyata dengan

mencit yang divaksinasi menggunakan vaksin RB51, namun berbeda secara nyata dibandingkan dengan mencit pada kelompok control yang diinjeksi menggunakan saline fisiologis ($p < 0.05$) (tabel 1).

Tabel 1. Nilai OD Elisa antibodi Isotype IgG dalam serum *Mus musculus* 14 hari pasca vaksinasi

Kelompok	Vaksin	Nilai OD Elisa Isotype IgG (rata-rata ± SD)			
		IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG3
1	NaCl fisiologis	0,18 ^a ± 0,07	0,97 ^a ± 0,14 ^a	3,79 ^a ± 0,04	2,77 ^a ± 0,13
2	SLPS Al(OH) ₃	4,61 ^b ± 1,37	32,19 ^b ± 9,46	75,62 ^b ± 2,45	47,45 ^b ± 6,38
3	SLPS Montanide	5,79 ^b ± 1,71	40,09 ^c ± 8,38	75,87 ^b ± 1,28	49,39 ^b ± 1,56
4	RB51	5,85 ^b ± 1,22	30,90 ^b ± 7,73	75,69 ^b ± 2,49	49,31 ^b ± 2,97

Super skrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

LPS *B. abortus* sangat berbeda dengan LPS kebanyakan bakteri Gram negatif lainnya, LPS *E. Coli* misalnya, selain 10.000 kali lebih lemah tingkat toksisitasnya, LPS *B. abortus* juga 100 kali lebih tidak bersifat *pyrogenic*. LPS *E.coli* tidak memberikan stimulasi respon antibodi spesifik pada mencit strain LPS-*hyporesponsive* C3H/HeJ, sedangkan terhadap mencit strain LPS-*responsive* C3H/HeAu dominan menginduksi produksi antibodi Ig M dan IgG dalam tingkat yang rendah, demikian pula terhadap mencit BALB/c *euthymic* dan *athymic*, hal ini sangat kontras dengan LPS *Brucella* yang memberikan respon antibodi spesifik yang didominasi IgM dan IgG dalam jumlah besar baik pada mencit strain LPS-*hyporesponsive* C3H/HeJ, LPS-*responsive* C3H/HeAu demikian pula terhadap mencit BALB/c *euthymic* dan *athymic* (Kurtz and Berman, 1986; Grilló, 2004).

Hasil evaluasi respon antibody yang ditunjukkan pada penelitian ini adalah kedua jenis vaksin subunit SLPS Al(OH)₃ dan SLPS montanide mampu menghasilkan respon antibodi IgG yang kuat dan setara dengan vaksin RB51, kecuali sekresi IgG2a, dimana SLPS montanide menghasilkan titer yang lebih tinggi. Respon antibodi terhadap SLPS Al(OH)₃, SLPS montanide dan RB51 yang dihasilkan didominasi oleh IgG2. Terdapat dua isotype dari IgG2 yaitu IgG2a dan IgG2b, dimana sekresi keduanya sangat dipengaruhi oleh induksi antigen spesifik (LPS) terhadap sel Th1 yang mengakibatkan aktivasi sel B. Respon imun yang ditandai dengan sekresi IgG2, baik IgG2a atau IgG2b merupakan salah satu bentuk dari respon imun seluler. IgG1 disekresi oleh sel B akibat induksi LPS terhadap sel Th2 sebagai bentuk respon imun humoral (Fernandes *et.al.*, 1996; Golding *et.al* 2001; Schroder 2004; Deenick 2005).

Kesimpulan

Vaksin berbasis SLPS dengan dua adjuvant yang berbeda mampu menginduksi sel B untuk memproduksi titer immunoglobulin IgG1, IgG2a, IgG2b dan IgG3 yang setara dengan sekresi immunoglobulin yang dihasilkan oleh mencit yang divaksinasi menggunakan vaksin RB51.

Ucapan Teerima Kasih

Penelitian ini terlaksanan atas pendanaan dari DIPA tahun 2014 Balai Besar Veteriner Maros, Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Peneliti juga mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Suwarno, M. Si atas bantuan vaksin dan fasilitas penelitian.

Referensi

- Avila-Calderón, E.D. , A. L. Merino, N. Sriranganathan, S. M. Boyle and A. Contreras-Rodríguez. 2013. Review Article: A History of the Development of Brucella Vaccines. Hindawi Publishing Corporation. BioMed. Res. Inter.
- Deenick, E. K., J. Hasbold and P. D. Hodgkin. 2005. Decision Criteria for Resolving Isotype Switching Conflicts by B cells. Eur. J. Immunol. 35: 2949–2955.
- Fernandes, D.M., X. Jiang, J. H. Jung, C. L. Baldwin. 1996. Comparison of T cell cytokines in resistant and susceptible mice infected with virulent *Brucella abortus* strain 2308. FEMS Immunology and Medical Microbiology 16: 193-203.
- Golding, B., D. E. Scotta, O. Scharf, L. Y. Huang, M. Zaitseva, C. Lapham, N. Ellera and H. Golding. 2001. Immunity and Protection Against *Brucella abortus*. J. Microb. Infect. 3: 43-48
- Grilló, M.J., J.M. Blasco, J.P. Gorvel, I. Moriyón and E. Moreno. 2004. What have we learned from brucellosis in the mouse model?. Veterinary Research.43: 29. <http://www.veterinaryresearch.org/content/43/1/29>.
- Jain, S., P. Afley, S.K. Dohre, N. Saxena and S. Kumar. 2014. Evaluation of Immunogenicity and Protective Efficacy of Plasmid DNA Vaccine Encoding Ribosomal Protein L9 of *Brucella abortus* in BALB/C Mice. J. Vacc. 32:4537-4542. www.elsevier.com/locate/vaccine.
- Kurtz, R.S. and D.T. Berman. 1986. Influence of Endotoxin-Protein in Immunoglobulin G Isotype Responses of Mice to *Brucella abortus* Lipopolysaccharide. J. Infect and Immun. 54(3): 728-734.
- OIE. 2009. Bovine Brucellosis. *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Organisation for Animal Health Chapter 2.4.3.
- Schroder, K., P.J. Hertzog, T. Ravasi and D. A. Hume. 2004. Interferon Gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. J. Leuko. Biol. 75.
- Schurig, G.G., N. Sriranganathan and M.J. Corbel. 2002. Brucellosis vaccines: past, present and future. Vet. Microbiol. 90: 479-496.
- Simborio, H.L.T., A. W. B. Reyes, H. T. Hop, L. T. Arayan, W. Min, H.J. Lee, H. H. Chang and S. Kim. 2014. Strategies for the development of an effective vaccine against Brucellosis J. Prev. Vet. Med. Vol. 38(2): 53-60. <http://dx.doi.org/10.13041/jpvm.2014.38.2.53>

LPS *Brucella* spp : Struktur, Biosintesis dan Interaksi dengan Sistem Imun Hospes

Saiful Anis

Medik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros

Latar belakang

Brucellosis adalah penyakit infeksius bakterial yang disebabkan oleh bakteri-bakteri dari genus *Brucella*. Brucellosis telah banyak menimbulkan dampak terhadap kesehatan hewan dan manusia, dan secara luas menimbulkan dampak sosial ekonomi, terutama bagi negara-negara yang menandalkan pendapatan utamanya kepada peternakan, baik sebagai penghasil daging maupun susu [1].

Terdapat enam spesies diantara genus *Brucella* yang sampai saat ini sudah diketahui, yaitu: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, dan *B. neotomae*. Klasifikasi ini terutama didasarkan pada perbedaan pathogenisitas dan hospes utamanya [2]. Pathogenik utama diantara bakteri ini adalah *B. abortus* sebagai penyebab brucellosis pada sapi; *B. melitensis* etiologi utama brucellosis pada domba dan kambing, suatu penyakit yang menyebabkan abortus pada domba dan kambing, terutama di negara-negara Mediterania; dan *B. suis* sebagai penyebab brucellosis pada babi. Secara berurutan *B. ovis* dan *B. canis* adalah penyebab epididimitis pada domba dan brucellosis pada anjing [3]. Untuk *B. neotomae* kasus terlapor hanya terjadi pada tikus gurun. Strain *Brucella* juga menyerang satwa liar yang beraneka ragam seperti: bison, rusa, babi liar, serigala, kerbau liar, dan elk [4]. Akhir-akhir ini bahkan muncul dua genus baru *Brucella* pada mamalia laut yaitu *B. pinnipediae* dan *B. cetaceae* [5,6]. Untuk membedakan spesies dan biovar pada saat ini dilakukan dengan pengujian diferensiasi berdasarkan karakteristik phenotip antigen lipopolysaccharida, phage typing, dye sensitivity, kebutuhan CO₂, produksi H₂S dan properti metabolik [7].

Sebagai tambahan, *Brucella* juga berpotensi dijadikan sebagai senjata biologis semenjak diketahui bahwa *Brucella* dapat ditransmisikan melalui spray, sebagaimana telah terlapor adanya pada manusia yang terinfeksi melalui bakterial spraying di laboratorium atau kontaminasi yang terjadi pada saat abortus pada hewan terinfeksi [8]. *Brucella* adalah bakteri yang sangat kontagius, 10 sampai 100 bakteri sudah cukup untuk menimbulkan kontaminasi spray pada manusia.

Makalah ini mereview pentingnya lipopolysaccharida terhadap derajat virulensi *Brucella*, komposisi kimia LPS, genom *Brucella*, gen yang terlibat pada biosintesis LPS dan interaksi antara LPS dan innate immunity.

Komposisi kimia LPS strain *Brucella*

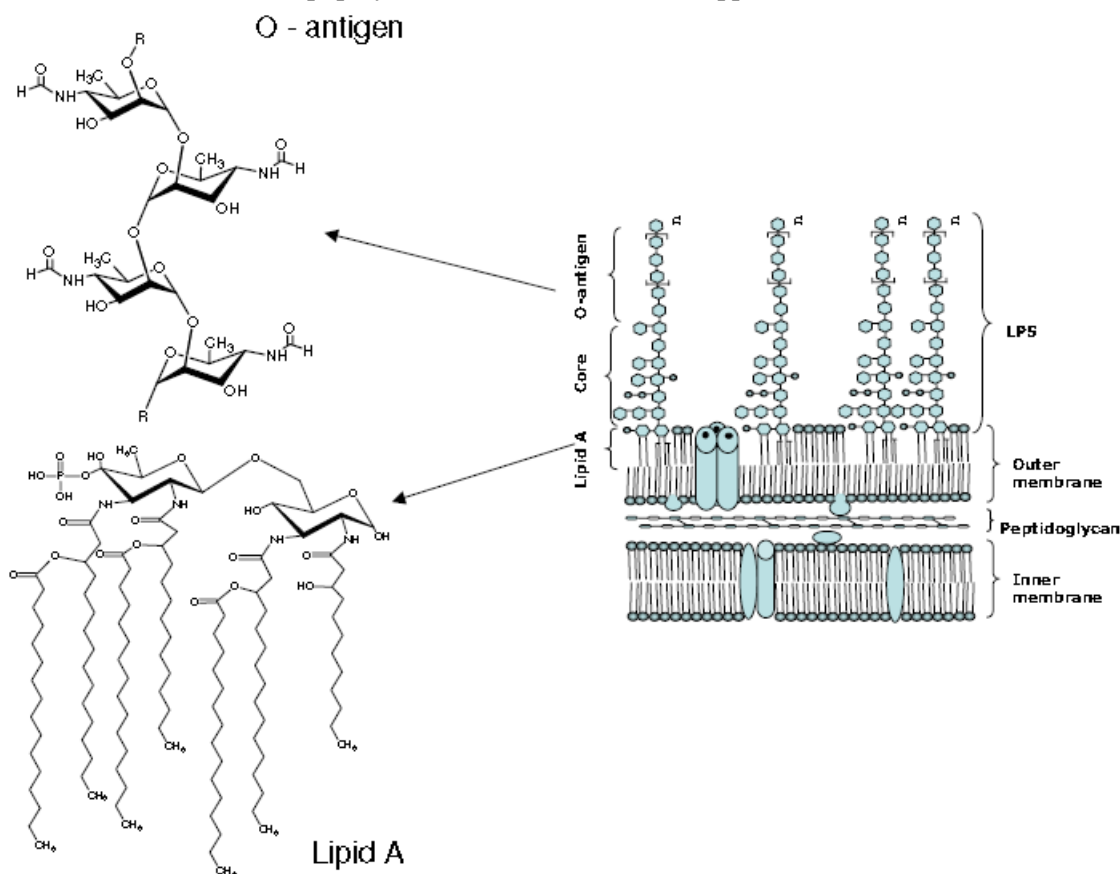
Outer membrane mengandung lipopolysaccharida (LPS) yang merupakan faktor virulensi utama *Brucella*. LPS merupakan komponen yang sangat penting dalam mempertahankan integritas struktur dan fungsional outer membran bakteri Gram negatif. Setiap bakteri Gram negatif selalu mengekspresikan gen penyandi LPS, selain itu LPS juga berperan sebagai target primer dari sistem immune innate mamalia. *Brucella* memiliki struktur LPS non klasik yang unik dibandingkan dengan LPS klasik golongan enterobacteria misalnya *Escherichia coli* [9]. Virulensi utama *Brucella* ditentukan oleh LPS, hal ini dibuktikan dengan berkurangnya kemampuan survival organisme ini ketika secara alamiah kekurangan LPS.

LPS memiliki tiga domain: lipid A, core oligosaccharida, dan O-antigen atau O-side chain (gambar 1.). O-polysaccharida LPS smooth *Brucella* (S-LPS) adalah homopolymer 1,2-linked 4,6-dideoxy-4-formamido- α -D-mannopyranosyl tidak bercabang, biasanya dengan panjang rangkaian rata-rata 96 sampai 100 glycosyl subunits [10]. O-polysaccharida terhubung dengan core oligosaccharida yang tersusun atas mannososa, glukosa, 2-amino-2,6-dideoxy-D-glucose (quinovosamine), 2-amino-2-deoxy-D-glucose (glucosamine), 3-deoxy-D-manno-2-octulosonic acid (KDO) dan gula yang tidak teridentifikasi. Lipid A, terhubung dengan core oligosaccharide, mengandung 2,3-diamino-2,3-dideoxy-D-glucose (diaminoglucose) sebagai penyusun utama, amida dan ester-terikat rangkaian panjang jenuh (C16:0 sampai C18:0) dan asam lemak hydroxylated (3-OH-C12:0 to 29-OH-C30:0) [11]. Lipid A hydrophobic pada umumnya menyusun selaput luar outer membrane dan bertanggung jawab terhadap beberapa

properti endotoksik yang berhubungan dengan LPS [12]. *Brucella* lipid A mengandung fragmen protein outer membrane yang memiliki ikatan sangat kuat, prosedur konvensional tidak dapat melepas lipid-A-associated protein dari LPS enterobacteria [11,13].

Heterogenitas LPS enterobacteria diketahui berhubungan dengan panjang O-polysaccharida-nya dan perbedaan kimiawi penyusun core oligosaccharida dan lipid A [14]. Pada enterobacteria lipid A, derajat heterogenitas ini tergantung pada perbedaan kombinasi amida dan asam lemak terikat ester, phosphat, gula netral, ethanolamine dan perbedaan tipe struktur amino gula yang ada pada molekul [15]. Untuk keperluan praktis, perbedaan derajat heteogenitas LPS ini sebagai dasar studi imunologi dan diagnosa brucellosis [16].

Gambar 1. Skematik struktue lipopolysaccharide (LPS) *Brucella* spp.



Genome *Brucella*

Pada saat ini, sequence genome *B. abortus*, *B. melitensis* dan *B. suis* sudah tersedia [17-19]. Genome dari *B. abortus*, *B. melitensis* dan *B. suis* memiliki sequence, organisasi dan struktur yang sangat mirip. Beberapa fragmen memiliki genom yang unik. Komparasi genomik memungkinkan kita untuk membedakan aspek virulensi *Brucella* yang sebelumnya tidak dapat dilakukan. Era teknologi post genomic sekarang ini menawarkan kesempatan untuk memahami secara menyeluruh perbedaan biologis spesies *Brucella*. Pada tingkat proteotome dijumpai perbedaan extensive metabolit antara *B. melitensis* reference strain 16 M dengan strain vaksin Rev1. Sama halnya dengan pada kultur laboratoris *B. melitensi* dan *B. abortus* dapat dibedakan hanya dengan melihat proteotome-nya [20]. Dengan menggunakan sequence komplet *B. melitensis*, Dricot *et al.* [21] menghasilkan database protein-coding ORF dan menyusun perpustakaan ORFome 3091 sebagai jalur untuk membuat klon. Tabel 1 merupakan gen penyandi untuk biosintesis O-antigen pada *Brucella* spp.

Tabel 1. gen penyandi untuk biosintesis O-antigen pada *Brucella* spp.

Gen	Produk
Gmd	GDP-mannose dehidratase
Per	Perosamine synthetase
Pgm	Phosphoglucomutase
Pmm	Phosphomannomutase
ManB	Mannose isomerase
ManC	Mannose guanylyltransferase
Wzm	O-antigen export permease
Wzt	ATP-binding protein
WbkB	no similarity to known genes
WbkC	Methionyl tRNA formyltransferase
WbkA	N-formyl-perosaminyltransferase

Gen yang terlibat pada biosintesis LPS

Pada umumnya penelitian gen dan produknya yang terlibat dalam biosintesis LPS selalu berhubungan dengan sintesis O-chain (tabel 1). Banyak strain mutan atenuasi dengan kelainan pada struktur LPS mengkonfirmasi betapa pentingnya molekul ini terhadap derajat virulensi *Brucella*. Sebaliknya, kepentingan LPS dalam siklus hidup *Brucella*, sangat sedikit yang diketahui tentang metabolic pathway dan enzyme yang dibutuhkan dalam sintesisnya.

Di bawah ini digambarkan beberapa gen utama yang terlibat pada biosintesis LPS dan perannya dalam menyandi produk.

Perosamine synthetase (per)

Godfroid et al. [27] menggambarkan analisis molekuler gen yang dibutuhkan dalam sintesis O-antigen pada *Brucella* melitensis 16 M. Gen perosamine synthetase diklon dan dilakukan sequencing. pada *V. cholerae* O1, perosamine disintesis dari fructose 6-phosphate melalui empat intermediat: mannose 6-phosphate, mannose 1-phosphate, GDP-mannose, dan 4-keto-6-dideoxymannose. Terakhir, produk akhir ini dikonversi menjadi GDP-perosamine oleh perosamine synthetase [23]. Dikarenakan tahap akhir dari perosamine synthesis pathway antara *V. cholerae* dan *B. melitensis* identik maka, diasumsikan tahap-tahap awal identik atau serupa diantara kedua organisme ini. Pada *Brucella*, GDP-perosamine kemudian akan berperan sebagai substrat yang ditambahkan untuk menyusun dan mengalami polimerisasi menjadi O-antigen, ditranslokasikan ke periplasma, ditransfer ke lipid A-core oligosaccharide, dan diekspor ke permukaan sel. Gangguan pada per (B3B2 mutant) menyebabkan ketidakmampuan secara total biosintesis O-sidechain dari *B. melitensis* 16 M.

Phosphomannomutase (pmm atau manB)

Allen et al. [22] dengan lebih baik mengkarakterisasi peran dari O-antigen terhadap virulensi dan kemampuan bertahan menggunakan transposon mutagenesis untuk membuat *B. abortus* rough mutants dengan presentasi defek pada O-antigen. Strain mutan yang ditandai dengan adanya pemotongan rough LPS dan dilakukan analisa sequence DNA terhadap mutan ini, terungkap bahwa gangguan terjadi pada gen penyandi phosphomannomutase (pmm atau manB), yang memiliki aktivitas yang dibutuhkan dalam sintesis full-length core polysaccharide yang akan ditambahkan pada O-antigen. Gen ini bertanggung jawab dalam interkonversi mannose-6-phosphate dan mannose-1-phosphate. Dalam *Brucella*, kedua mannose tersebut adalah prekursor penting dalam O-antigen biosynthetic pathway dan dalam produksi inner core moiety LPS [24].

Phosphoglucomutase (pgm)

Gen penyandi phosphoglucomutase (pgm) adalah gen yang terlibat dalam biosintesis O-antigen pada *B. abortus* [25]. Gen ini secara mutlak dibutuhkan dalam biosintesis ADP-glucose, UDP-glucose, dan UDP-galactose, donor dari glukosa atau galaktosa untuk biosintesis molekul yang mengandung gula ini. *B. abortus* LPS O-antigen adalah homopolymer dari perosamine, suatu derivat dari mannose yang disintesis melalui GDP-mannose, oleh karena itu

spesies pgm mutan tidak dipengaruhi oleh sintesis GDP-perosamine, sebagai pendonor gula dari O-antigen subunit. Insertsi mutagenesis pgm akan menghasilkan *B. abortus* yang memiliki gen resistan terhadap gentamisin dan pada profil elektroperisisnya LPS yang diekstraksi dari mutan

ini kehilangan O-antigen-nya. . Mutan ini tidak dapat bertahan dalam mencit namun dapat bereplikasi pada sel HeLa, hal ini mengindikasikan bahwa LPS komplit tidak esensial dalam invasi atau multiplikasi intraseluler. Perilaku ini menunjukkan bahwa LPS memerankan peran dalam survival ekstraseluler pada hewan, kemungkinan dengan melindungi bakteri terhadap lysis yang dimediasi oleh komplemen, tetapi tidak dengan mekanisme survival intraseluler.

Interaksi antara *Brucella* LPS dan innate immunity hospes

Sangat berbeda dengan pathogen intraseluler lainnya, spesies *Brucella* tidak memproduksi eksotoksin, kapsul antipagosit atau dinding sel yang tebal, bentuk resistensi atau fimbriae, dan tidak menunjukkan adanya variasi antigenik [26]. Kunci dari aspek virulensi *Brucella* terletak pada kemampuannya untuk berproliferasi baik di dalam profesional ataupun non profesional sel pagositik hospes. Oleh karena itu, *Brucella* sukses melewati efek bakterisidal pagosit, dan virulensinya serta infeksi kronis yang dihasilkan didapat melalui kemampuannya menghindari *killing mechanisms* sel hospes [27].

Beberapa penelitian dengan menggunakan non-profesional pagosit menunjukkan *Brucella* menyerang sel hospes dan ditelan ke dalam *early endosome-like vacuoles*. Vakuola ini kemudian dengan cepat menyatu dengan *early autophagosome* yang memperoleh vacuolar H⁺-ATPase dan *lysosome-associated membrane protein* (LAMP) sehingga matang menjadi *late autophagosome*. Autophagosome ini menghambat terjadinya fusi dengan lysosom dan akhirnya menjadi vakuola tempat replikasi secara normal yang berasosiasi dengan retikulum endoplasma [29,31]. Porte *et al.* Menunjukkan bahwa LPS O-side chain terlibat dalam penghambatan fusi awal dari phagosome yang berisi *B. suis* dengan lysosom dalam makrofag bangsa murine pada awal pasca pagositosis [32]. Hal ini sangat kontras dengan phagosome yang berisi rough mutan, yang gagal untuk mengekspresikan O-antigen, yang dengan cepat terjadi fusi dengan lysosom. LPS O-chain bisa jadi sebagai pengatur utama perilaku awal bakteri dalam makrofag.

Pengenalan sel seperti monosit dan makrofak terhadap keberadaan LPS selama berabad-abad menyebabkan respon yang cepat dari hospes mamalia terhadap infeksi Gram negatif. Respon bawaan cepat terhadap LPS ini ditandai dengan keterlibatan pelepasan mediator *pro-inflammatory seperti TNF- α , IL-6, IL-2 dan IL-1 β* yang dalam situs lokal infeksi dalam tingkat sedang menguntungkan hospes dengan menimbulkan peradangan dan dilain pihak sistem kekebalan tubuh akan bekerja untuk menghilangkan organisme penyerang. Namun, dalam kondisi di mana tubuh terpapar LPS berlebihan atau secara sistemik (seperti ketika LPS memasuki aliran darah), maka reaksi inflamasi sistemik dapat terjadi, menyebabkan kegagalan beberapa fungsi organ, shock dan berpotensi menimbulkan kematian [31].

Pengenalan LPS bakteri dimediasi oleh CD14, namun CD14 tidak memiliki transmembran dan intraseluler domain yang diperlukan sebagai sinyal transduksi dengan demikian membutuhkan keterlibatan molekul dari keluarga TLR. Penemuan baru-baru ini tentang protein TLR, mamalia memiliki reseptor pengingat, memberikan wawasan baru dalam memahami mekanisme bagaimana *Brucella* dapat menimbulkan respon seluler dari sel kekebalan bawaan. *B. abortus* menginduksi produksi interleukin (IL) -12 dari monosit manusia dan efek ini diblokir oleh antibodi anti-CD14, menunjukkan bahwa *Brucella* mengikat dan / atau memberi sinyal ke monosit dimediasi oleh LPS [32]. Selain itu, *Brucella* memiliki kemampuan untuk menimbulkan sekresi memperoleh IL-12 yang mendorong sel Th0 untuk berdiferensiasi menjadi sel Th1 effector dan sel memori, dimana hal ini yang merupakan ciri utama dari potensi penggunaan *B. abortus* sebagai vaksin dan pembawa adjuvant.

B. abortus, LPS-nya yang telah dimurnikan dan lipid A memiliki kemampuan untuk memicu TLR2 dan TLR4 dalam aktivasi *innate recognition* dan kemampuan eliminasi bakteri penyerang [33].

Referensi

1. Robinson, A. 2003. *Guidelines for Coordinated Human and Animal Brucellosis Surveillance*. FAO. Rome
2. Corbel MJ, Brinley-Morgan WJ: Genus Brucella. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1. Edited by: Krieg NR, Holt JG. The Williams & Wilkins, Baltimore; 1984:377-388.
3. Blasco JM: Brucella ovis. In Animal brucellosis Edited by: Nielsen K, Duncan JR. Boca Raton, FL: CRC Press; 1990:351-78.
4. Davis DS: Brucellosis in Wildlife. In Animal Brucellosis Edited by: Nielsen K, Duncan JR. CRC Press, Boca Raton, FL; 1990:321-334.
5. Cloeckaert A, Verger JM, Grayon M, Paquet JY, Garin-Bastuji B, Foster G, Godfroid J: Classification of Brucella spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. Microbes Infect 2001, 3:729-738.
6. Cloeckaert A, Grayon M, Grépinet O, Boumedine KS: Classification of Brucella strains isolated from marine mammals by infrequent restriction site-PCR and development of specific PCR identification tests. Microbes Infect 2003, 5:593-602.
7. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM: Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris 1988.
8. Guihot A, Bossi P, Bricaire F: Bioterrorism with brucellosis. Presse Med 2004, 33:119-22.
9. Lapaque N, Moriyon I, Moreno E, Gorvel JP: Brucella lipopolysaccharide acts as a virulence factor. Current Opinion in Microbiology 2005, 8:60-66.
10. Bundle DR, Cherwonogrodzky JW, Gidney MAJ, Meikle PJ, Perry MB, Peters T: Definition of Brucella A and M epitopes by monoclonal typing reagents and synthetic oligosaccharides. Infect Immun 1989, 57:2829-2836.
11. Moreno E, Stackebrandt E, Dorsch M, Wolters J, Busch M, Mayer H: Brucella abortus 16S rRNA and lipid A reveal phylogenetic relationship with members of the alpha-2 subdivision of the class Proteobacteria. J Bacteriol 1990, 172:3569-3576.
12. Raetz CRH: Bacterial lipopolysaccharides: a remarkable family of bioactive macroamphiphiles. In Escherichia coli and Salmonella Volume 1. Edited by: Neidhardt FC. Cellular and Molecular Biology; 1996:1035-1063.
13. Rojas N, Freer E, Weintreub A, Ramfrez M, Lind S, Moreno E: Immunochemical identification of Brucella abortus lipopolysaccharide epitopes. Clin Diagn Lab Immunol 1994, 1:206-213.
14. Freer E, Rojas N, Weintraub A, Lindberg AA, Moreno E: Heterogeneity of Brucella abortus lipopolysaccharides. Res Microbiol 1995, 146:569-578.
15. Raetz CR: Biochemistry of endotoxins. Annu Rev Biochem 1990, 59:129-170.
16. Díaz-Aparicio E, Aragón V, Marín C, Alonso B, Font M, Moreno E, Pérez-Ortiz S, Blasco JM, Diaz R, Moriyón I: Comparative analysis of Brucella serotypes A and M and Yersinia enterocolitica O:9 polysaccharides for serological diagnosis of brucellosis in cattle, sheep, and goats. J Clin Microbiol 1993, 31:3136-3141.
17. DelVecchio VG, Kapatral V, Redkar RJ, Patra G, Mujer C, Los T, Ivanova N, Anderson I, Bhattacharyya A, Lykidis A, Reznik G, Jablonski L, Larsen N, D'Sousa M, Bernal A, Mazur M, Goltsman E, Selkov E, Elzer PH, Hagius S, O'Callaghan D, Letesson JJ, Haselkorn R, Kyrpides N, Overbeek R: The genome sequence of the facultative intracellular pathogen Brucella melitensis. Proc Natl Acad Sci U S A 2002, 99:443-448.
18. Paulsen IT, Seshadri R, Nelson KE, Eisen JA, Heidelberg JF, Read TD, Dodson RJ, Umayam L, Brinkac LM, Beanan MJ, Daugherty SC, Deboy RT, Durkin AS, Kolonay JF, Madupu R, Nelson WC, Ayodeji B, Kraul M, Shetty J, Malek J, Van Aken SE, Riedmuller S, Tettelin H, Gill SR, White O, Salzberg SL, Hoover DL, Lindler LE, Halling SM, Boyle SM, Fraser CM: The Brucella suis genome reveals

- fundamentalsimilarities between animal and plant pathogens and symbionts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:13148-13153.
19. Halling SM, Peterson-Burch BD, Bricker BJ, Zuerner RL, Qing Z, Li LL, Kapur V, Alt DP, Olsen SC: Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *J Bacteriol* 2005, 8:2715-2726.
 20. DelVecchio VG, Kapatral V, Elzer P, Patra G, Mujer CV: The genome of *Brucella melitensis*. *Vet Microbiol* 2002, 90:587-592.
 21. Dricot A, Rual JF, Lamesch P, Bertin N, et al.: Generation of the *Brucella melitensis* ORFeome Version 1.1. *Genome Research* 2004, 14:2201-2206.
 22. Allen CA, Adams LG, Ficht TA: Transposon-derived *Brucella abortus* rough mutants are attenuated and exhibit reduced intracellular survival. *Infect Immun* 1998, 66:1008-1016.
 23. Stroehrer UH, Karageorgos LE, Brown MH, Morona R, Manning PA: A putative pathway for perosamine biosynthesis is the first function encoded within the *rfb* region of *Vibrio cholerae* O1. *Gene* 1995, 166:33-42.
 24. Zygmunt MS, Dubray G, Bundle DR, Perry MP: Purified native haptens of *Brucella abortus* B19 and *B. melitensis* 16 M reveal the lipopolysaccharide origin of the antigens. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1988, 139:421-433.
 25. Ugalde JE, Czibener C, Feldman MF, Ugalde RA: Identification and characterization of the *Brucella abortus* phosphoglucomutase gene: role of lipopolysaccharide in virulence and intracellular multiplication. *Infect Immun* 2000, 68:5719-5723.
 26. Ugalde JE, Comerici DJ, Leguizamón MS, Ugalde RA: Evaluation of *Brucella abortus* phosphoglucomutase (*pgm*) mutant as a new live rough-phenotype vaccine. *Infect Immun* 2003, 71:6264-9.
 27. Godfroid F, Taminiou B, Danese I, Denoel P, Tibor A, Weynants V, Cloeckert A, Godfroid J, Letesson JJ: Identification of the perosamine synthetase gene of *Brucella melitensis* 16 M and involvement of lipopolysaccharide O side chain in *Brucella* survival in mice and in macrophages. *Infect Immun* 1998, 66:5485-5493.
 28. Finlay B, Falkow S: Common themes in microbial pathogenicity. *Microbiol Mol Biol Rev* 1997, 61:136-169.
 29. Pizarro-Cerda J, Meresse S, Parton RG, van der Goot G, Sola-Landa A, Lopez-Goni I, Moreno E, Gorvel JP: *Brucella abortus* transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. *Infect Immun* 1998, 66:5711-5724.
 30. Pizarro-Cerda J, Moreno E, Sanguedolce V, Mege JL, Gorvel JP: Virulent *Brucella abortus* prevents lysosome fusion and is distributed within autophagosome-like compartments. *Infect Immun* 1998, 66:2387-2392.
 31. Dorn BR, Dunn WA Jr, Progulski-Fox A: Bacterial interactions with the autophagic pathway. *Cell Microbiol* 2002, 4:1-10. 52. Porte F, Naroeni A, Ouahrani-Bettache S, Liautard JP: Role of the *Brucella suis* lipopolysaccharide O antigen in phagosomal genesis and in inhibition of phagosome-lysosome fusion in murine macrophages. *Infect Immun* 2003, 71:1481-1490.
 32. Erridge C, Bennett-Guerrero E, Poxton IR: Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes and Infection* 2002, 4:837-851.
 33. Zaitseva M, Golding H, Manischewitz J, Webb D, Golding B: *Brucella abortus* as a potential vaccine candidate: induction of interleukin-12 secretion and enhanced B7.1 and B7.2 and intercellular adhesion molecule 1 surface expression in elutriated human monocytes stimulated by heat-inactivated *B. abortus*. *Infect Immun* 1996, 64:3109-3119.

Review Literatur: Sushi dalam Perspektif Kesehatan Masyarakat Veteriner, Sosial Budaya dan Ekonomi

Saiful Anis

Medik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros

Latar belakang

Makanan Jepang pada umumnya dibuat tidak hanya untuk memuaskan lidah melainkan juga mata. Sejarah makanan tradisional Jepang mendapat pengaruh kuat dari Cina. Bermula di abad ke-7 sampai abad ke-9, bangsa Cina memperkenalkan pemakaian sumpit kepada bangsa Jepang. Bangsa Cina yang menganut agama Budha juga menekankan vegetarisme yang ketat melalui aliran Zen. Tradisi memasak Jepang pun berubah, yang semula unggas dan daging disantap secara teratur, berubah menjadi banyak berbahan dasar ikan laut seperti ikan kakap, tuna, udang, cumi dan kerang (Corson, 2007).

Para juru masak Jepang menganut filosofi Zen yang mengatakan "makan dengan mata dan melihat dengan lidah", yang mengandung arti bahwa makanan tidak hanya enak di lidah tapi juga indah dipandang. Dalam makanan Jepang terdapat tiga unsur yang juga merupakan bagian dari filosofi Zen. Ketiga unsur tersebut meliputi tradisi, seni dan bahan makanan yang alami (Corson, 2007).

Di antara makanan Jepang yang populer tersebut, penulit tertarik dengan *Sushi*. *Sushi* adalah makanan yang terbuat dari nasi kepal dengan dibumbui cuka, garam dan gula, kemudian dibungkus dengan irisan ikan laut mentah, udang mentah, dan lain sebagainya.

Menurut sejarah, *sushi* berasal dari Asia Tenggara pada abad ke-3 SM. Ikan mentah yang sudah dibersihkan ditekan di antara lapisan-lapisan garam dan diberi pemberat batu. Setelah beberapa minggu, batu diangkat dan diganti dengan tutup yang ringan, dan beberapa bulan sesudah itu, ikan dan nasi yang sudah terfermentasi dianggap sudah siap dimakan (Sushi Encyclopedia, 2007; Sand, 2014).

Sampai sekarang perkembangan *sushi* sangat pesat. Terbukti dari banyaknya perubahan, mulai dari nama sampai bentuk bahkan komposisi bahan masakannya. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk membahas lebih lanjut mengenai *sushi*, baik dari aspek kesehatan masyarakat veteriner, aspek ekonomi dan aspek sosial budaya.

Sejarah Sushi

Asal muasal *sushi* dipercayai sejak abad kedua di Asia Tenggara, yaitu usaha untuk melakukan pengawetan ikan atau daging melalui proses fermentasi (Sushi Encyclopedia, 2007).

Naomichi Ishige, anthropologist dan ahli sejarah makanan, mengindikasikan metode pengawetan ikan air tawar ditemukan pertama kali di wilayah Sungai Mekong di Indocina dan bersebelahan dengan area persawahan kuno di wilayah Cina Barat daya, setelah itu menyebar ke Asia Tenggara, Cina dan Semenanjung Korea. Konsep orisinal *sushi* dibuat menggunakan tepung beras dan ikan asin atau potongan daging, dimana pada musim kemarau atau musim hujan yang ekstrim sulit mendapatkan bahan makanan ini. Pengawetan makanan secara alami terjadi ketikan dua jenis bahan ini bertumpuk bersama di dalam ember/wadah disimpan dengan menempatkan batu pemberat, sehingga fermentasi terjadi dalam suasana anaerob. Setelah masa pemeraman, mikroorganisme akan memproduksi asam laktat yang akan menghindarkan ikan atau daging dari pembusukan. Biasanya proses ini akan berlangsung selama 1-3 tahun, nasi yang terfermentasi akan dibuang karena teksturnya akan sangat lembek. *Sushi* jenis ini dinamakan dengan *Nare-zishi* ('Nare' berarti fermentasi) dan sampai sekarang masih digunakan di beberapa negara di Asia Tenggara seperti Malaysia, Thailand dan Laos. Metode ini didokumentasikan dalam "Chinese history as far back as the 2nd century" (Falkae, 2007).

Setelah itu, untuk mempercepat proses fermentasi, maka nasi mulai digunakan. Pada abad ke 16, untuk mengurangi masa persiapan, maka dimulailah penambahan cuka. Cara terakhir inilah yang dipilih bangsa Jepang sebagai proses pembuatan *sushi* dan menjadi warisan



budaya Jepang. Mulai dari waktu itu, fermentasi tidak lagi digunakan, dan tipe sushi yang hanya menggunakan cuka dan nasi ini mulai digunakan.

Sashimi (potongan ikan mentah) dikonsumsi di Jepang sejak berabad-abad, tetapi mulai awal 1880-an ketika nasi dikombinasikan dengan ikan mentah untuk pertama kalinya. Nasi yang telah diasamkan dengan penambahan cuka dan sashimi inilah yang selanjutnya secara luas seluruh dunia mengenalnya sebagai sushi (Sushi Encyclopedia, 2007).

Jenis Sushi

Menurut Falkae (2007) terdapat beberapa jenis sushi sebagai tipe asal dari sushi antara lain:

Nare-sushi

Dianggap sebagai sushi yang paling enak, tetapi tidak terlalu populer, sajian ini membutuhkan waktu persiapan yang sangat lama yaitu antara 1 sampai 3 tahun karena membutuhkan proses fermentasi nasi, pada saat dimakan nasi yang teksturnya sudah sangat lengket dan lembek harus dibuang. Sushi jenis ini merupakan usaha yang sebenarnya untuk mengawetkan bahan makanan. *Nama-nare* Sushi ini hanya mengalami semi-fermentasi, mentah dan dimakan bersama dengan nasi yang fermentasi. Rasa yang didapat akan sedikit asam.



Nigiri-sushi

'*Nigiri*' berarti dibuat dengan kepalan tangan, sushi gaya ini yang sampai sekarang paling populer. Sepotong ikan mentah akan diletakkan di atas gumpalan nasi yang dibuat dengan kepalan tangan. Jenis ini dibuat untuk memenuhi permintaan fast-food, karena dibuat hanya dalam waktu yang cukup singkat.



Chirashi-sushi

'*Chirashi*' secara literatur berarti 'tersebar di atas', dan seperti namanya sushi diletakkan tersebar di atas nasi.

Seiring perkembangan kuliner, maka terjadi pula evolusi terhadap jenis sushi menjadi nigiri sushi dan maki sushi. Maki sushi merupakan jenis sushi yang berbentuk rol silindris tersusun oleh nasi asam dan bahan pengisi berupa makanan laut, daging dan sayuran (Bargen, 2011).



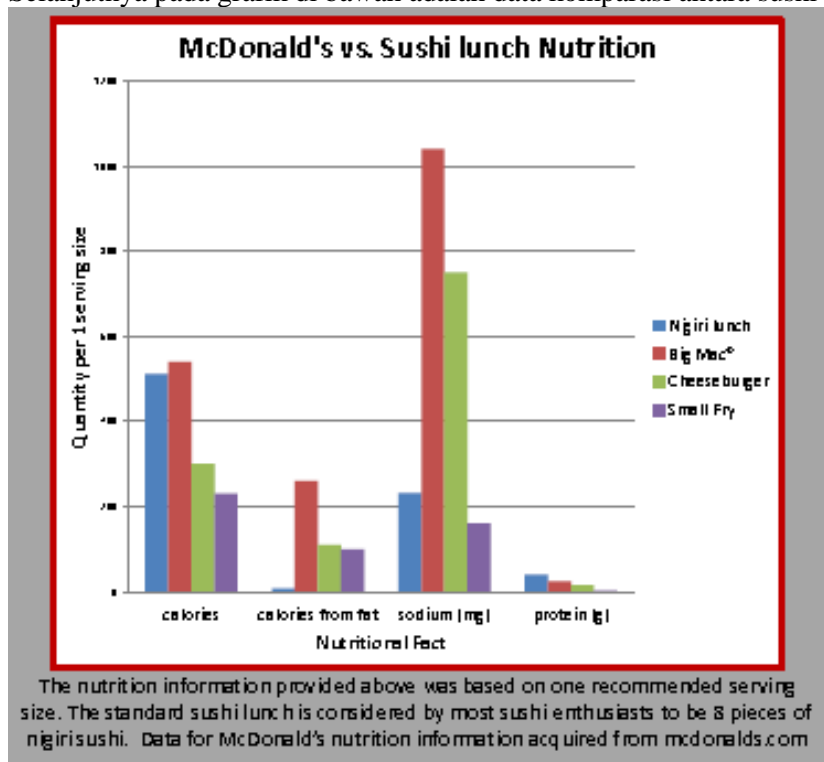
Sushi dalam Perspektif Kesehatan Masyarakat Veteriner

Asumsi sebagian besar masyarakat konsumsi sushi adalah suatu kebiasaan yang baik dan sehat, dalam tabel 1 di bawah ini data tentang kandungan nutrisi nigiri sushi yang diperoleh dari All Japan Sushi Association:

Type of Fish (nigiri, with rice)	Japanese Name	Calories	Other Nutritional Benefits
Crab	Kani	44.9	Rich in taurine and calcium
Mackerel	Saba	59.2	Taurine, Omega-3 fatty acids, Vitamin B12
Red Snapper	Tai	43.4	Taurine
Salmon	Sake	59.9	Vitamins B & D
Salmon Roe	Ikura	52.9	Iron, calcium
Sardine	Iwashi	63.1	Taurine & Omega-3 fatty acids
Sea Urchin	Uni	43.4	Vitamin A
Tuna (non-fatty)	Maguro (akami)	44.9	Iron & Omega-3 fatty acids
Young yellowtail	Hamachi	48.5	Vitamins A & C, iron, calcium

Tabel 1. Kandungan nutrisi nigiri sushi. Serving Size: 10-15g/fish slice (varied depending on type of fish). Served nigiri style so each calculation includes a normalized 30.5 kcal/20 g of sushi rice for every one piece of nigiri-sushi.

Selanjutnya pada grafik di bawah adalah data komparasi antara sushi dengan produk fast food



Data pada grafik di atas menunjukkan bahwa, meskipun memiliki nilai asupan kalori yang relatif sama, nigiri sushi jauh lebih sehat dalam hal kandungan lemak, sodium dan protein. Nigiri sushi hampir tidak mengandung lemak, sementara item McDonald's tersusun oleh lemak hampir 50%. Selain itu nigiri sushi sangat rendah sodium berbanding terbalik dengan kandungan proteinnya yang sangat tinggi, fast food menempatkan diri pada sisi yang berlawanan dengan kandungan sodium yang tinggi, namun dengan nilai protein yang rendah (Falkae, 2007).

Sushi semakin populer dan disukai banyak orang di berbagai belahan dunia, namun dibalik itu semua sushi memiliki potensi yang mengancam kesehatan. Berikut ini beberapa faktor yang berpotensi menimbulkan resiko terhadap kesehatan:

Penggunaan bahan mentah

Ikan yang tidak dimasak dapat dengan mudah terkontaminasi oleh berbagai patogen dan menimbulkan *foodborne illness* dan penyakit lain. Sebagai contoh, Anisakiasis yang disebabkan oleh anisakis, suatu parasit nematoda yang dijumpai dalam *seafood* mentah. 90% kasus anisakiasis sebagaimana yang digambarkan dalam banyak literatur disebabkan oleh konsumsi sushi dan sashimi (Bucci *et al.*, 2013). Pasien yang terserang pada umumnya akan sembuh dengan sendirinya, namun pada kasus anisakiasis invasif dengan adanya penetrasi ke dalam usus, hati dan paru paru, maka tindakan pembedahan akan dibutuhkan (Sakanari&McKerrow, 1989). Penyakit lain yang berpotensi ditimbulkan adalah *Minamata disease*. Penyakit ini mendapat namanya dari kota Minamata, Prefektur Kumamoto di Jepang, yang merupakan daerah di mana penyakit ini mewabah mulai tahun 1958. Pada waktu itu terjadi masalah wabah penyakit di kota Minamata Jepang. Ratusan orang mati akibat penyakit yang aneh dengan gejala kelumpuhan syaraf. Mengetahui hal tersebut, para ahli kesehatan menemukan masalah yang harus segera di amati dan di cari penyebabnya. Melalui pengamatan yang mendalam tentang gejala penyakit dan kebiasaan orang Jepang, termasuk pola makan kemudian diambil suatu hipotesis. Hipotesisnya adalah bahwa penyakit tersebut mirip orang yang keracunan logam berat. Kemudian dari kebudayaan setempat diketahui bahwa orang Jepang mempunyai kebiasaan mengonsumsi ikan laut dalam jumlah banyak. Dari hipotesis dan kebiasaan pola makan tersebut kemudian dilakukan eksperimen untuk mengetahui apakah ikan-ikan di Teluk

Minamata banyak mengandung logam berat (merkuri). Kemudian disusun teori bahwa penyakit tersebut diakibatkan oleh keracunan logam merkuri yang terkandung pada ikan. Ikan tersebut mengandung merkuri akibat adanya orang atau pabrik yang membuang merkuri ke laut. Penelitian berlanjut dan akhirnya ditemukan bahwa sumber merkuri berasal dari pabrik batu baterai Chisso. Akhirnya pabrik tersebut ditutup dan harus membayar kerugian kepada penduduk Minamata kurang lebih dari 26,6 jutadolar (Wikipedia, 2013).

Tingkat keasaman nasi

Kehati-hatian terhadap resiko terhadap kesehatan yang ditimbulkan karena konsumsi ikan mentah dalam sushi sudah menjadi kewaspadaan pada masyarakat. Namun, *public awareness* terhadap resiko yang berhubungan dengan nasi pada sushi masih rendah. Nasi untuk sushi pada umumnya disimpan pada temperatur ruang atau disimpan pada alat penghangat nasi dengan harapan sushi dapat dihidangkan hangat (sekitar 30°C) untuk mendapatkan rasa yang ideal. Usaha untuk menciptakan keamanan nasi sushi yang disimpan pada temperatur ruangan adalah dengan penambahan cuka untuk menurunkan pH untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Lee dan Heacock, 2014). Untuk mencegah pertumbuhan bakteri, pH nasi harus dipertahankan berada pada 4,6 atau lebih rendah. Pengecekan pH menggunakan pH meter atau pH strip secara teratur perlu dilakukan untuk memastikan pH berada pada level yang semestinya. Apabila pH nasi terlalu tinggi, dibutuhkan usaha untuk menurunkannya apabila mampu diupayakan atau membuang seluruh produk apabila sudah disimpan pada suhu di atas 5°C selama lebih dari 4 jam. Keasaman pada nasi juga akan membantu dalam melindungi bahan lain dalam sushi terhadap pertumbuhan bakteri (Queensland Health, 2011).

Pathogen yang berasosiasi dengan nasi sushi

Hampir semua mikroorganisme mati selama proses pemasakan nasi. Namun demikian, penanganan nasi yang sudah matang adalah lebih penting dari pada proses pemasakan itu sendiri, karena nasi yang telah matang menyediakan lingkungan yang tepat bagi pertumbuhan pathogen. Bakteri patogen yang berasosiasi dengan nasi terutama adalah *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*. Sebagai tambahan, nasi dapat dengan mudah mengalami kontaminasi silang karena *sushi chef's* selalu menangani nasi sushi dengan tangan, setelah itu menyentuh ikan mentah atau bahan-bahan lain pada saat yang sama.

***Bacillus cereus*:** *B. cereus* bakteri pembentuk spora yang dapat menimbulkan *foodborne illness* (Labbe and Garcia, 2001). Diantara beberapa spesies *Bacillus* yang ditemukan dalam berbagai jenis makanan, *B. cereus* adalah yang paling umum menimbulkan wabah *foodborne illness*, yang diakibatkan oleh *roduses toxins* yang dihasilkannya. Terdapat dua tipe *B. cereus foodborne illness*, yaitu: diareal (watery diarrhea, kram perut dan nyeri) dan emetic (muntah dan muntah) (Forsythe, 2010). Nasi atau beras dapat dengan mudah terkontaminasi oleh *B. cereus* selama penanaman, pemanenan, pemasakan dan penanganan pasca pemasakan (Haque and Russell, 2005). Spora *B. cereus* bertahan selama perebusan atau pemasakan beras dan mengalami germinasi ketika menemukan lingkungan yang tepat untuk tumbuh (Gilbert et al, 1974). Antara tahun 1973 dan 1985, *B. cereus* menimbulkan 17.8% dari total kasus keracunan makanan diakibatkan bakteri di Finlandia, 0.8% di Scotlandia, 0.7% di Jepang dan 2.2% di Kanada (Kotiranta et al, 2000).

***Staphylococcus aureus*:** *S. aureus* adalah bakteri penghasil toxin yang umum dijumpai pada kulit dan dalam hidung dan tenggorokan pada lebih dari 25% orang yang sehat (CDC, 2006). Kasus *S. aureus foodborne illness* paling sering diakibatkan oleh rendahnya higienitas juru masak dan *food handling practices* yang tidak layak. Gejala terjadi dalam 1 sampai 6 jam setelah konsumsi makanan yang terkontaminasi. Gejala klinis yang teramati adalah mual, muntah, kram perut dan diareal (Forsythe, 2010).

Mikroorganisme patogen lain: meskipun *B. cereus* dan *S. aureus* adalah penyebab utama sebagai patogen pada nasi sushi, proses penyajian nasi sushi sangat berpotensi mengalami kontaminasi silang oleh patogen lain karena penanganan sushi sering menggunakan tangan kosong. *Escherichia coli* salah satu patogen yang umum diketahui sebagai penyebab wabah yang berhubungan dengan restoran sushi. *Escherichia coli* lazim ditemukan di saluran pencernaan semua hewan termasuk manusia. Keberadaan *E. coli* dapat digunakan sebagai indikator adanya kontaminasi fecal (Labbe and Garcia, 2001). Juru masak sushi dengan tingkat

higienisitas yang rendah dapat memindahkan *E. coli* nasi sushi ketika membuat sushi dengan tangan kosong. Di Amerika pada tahun 2004 tepatnya di Nevada pernah terjadi wabah *E. coli* akibat rendahnya *food-handling practices* dan juru masak yang terinfeksi, dilaporkan 130 orang terjangkit (Jain *et al.*, 2008).

Temperatur

Meskipun tingkat keasaman nasi sudah tepat, sushi masing memiliki potensi sebagai *hazardous food*. Hal ini berhubungan dengan penggunaan bahan lain termasuk *seafood* dan ayam baik yang mentah atau telah dimasak. Oleh karena itu, adalah sangat penting adanya jaminan semua sushi disimpan pada temperatur rendah atau dalam jangka waktu yang terkontrol. Idealnya sushi disimpan pada suhu 5°C atau di bawahnya. Apabila sushi disimpan atau ditampilkan pada temperatur antara 5°C dan 60°C, maka diperlukan pencatatan suhu yang teratur untuk menjamin pelaksanaan aturan “4 jam/ 2 jam” diterapkan secara efektif. Aturan “4 jam/ 2 jam” seperti di bawah ini:

- Makanan yang berpotensi sebagai *hazardous food* keluar dari temperatur kontrol kurang dari 2 jam, maka harus segera di simpan dalam refrigerator atau segera dikonsumsi.
- Makanan yang berpotensi sebagai *hazardous food* keluar dari temperatur kontrol lebih dari 2 jam, tetapi kurang dari 4 jam, maka harus segera dikonsumsi.
- Makanan yang berpotensi sebagai *hazardous food* keluar dari temperatur kontrol lebih dari 4 jam, maka harus segera di simpan dalam refrigerator atau segera dibuang.

NSW Food Authority (2008) melakukan penelitian model *food poisoning bacteria* yang berpotensi terjadi sebagai dampak penyimpanan sushi pada temperatur tidak dingin/*unrefrigerated*, ditarik kesimpulan jangan pernah menyimpan atau mendisplay sushi pada temperatur di atas 25°C selama lebih dari 4 jam.

Food handling

Jaminan terhadap penggunaan semua bahan sushi dalam kondisi bersih dan bebas dari kontaminasi dan melakukan penanganan seminimal mungkin adalah sangat penting. Semua peralatan juga harus bersih dan adanya sanitasi untuk menjamin kontaminasi bakteri sedikit atau tidak terjadi sama sekali. Sistem penanganan ikan mentah harus terpisah dari bahan yang siap makan termasuk ikan yang telah dimasak, ayam, telur dan sayuran untuk meminimalisasi resiko kontaminasi silang (Queensland Health, 2011).

Sushi dalam Perspektif Sosial Budaya

Sushi kini telah menjadi sebuah produk budaya Jepang yang telah mengglobal. Theodore Bestor, seorang profesor antropologi di Universitas Cornell, menulis sebuah artikel yang berjudul “*How sushi went global?*” bahwa sushi telah berubah dari sesuatu yang eksotis dan hampir tidak disukai menjadi makanan yang berkelas tinggi (Bestor, 2000). Kepopuleran sushi ditandai dengan menjamurnya restoran-restoran sushi di pelbagai belahan dunia. Di Amerika Serikat, banyak keturunan campuran orang Amerika dan Jepang yang menjalankan bisnis *sushibar* yang menyediakan sushi yang telah mengalami perubahan (misalnya *California Sushi*) dengan harga yang lebih terjangkau untuk masyarakat (Yang *et al.*, 1997). Di Singapura, sushi menjadi *booming* pada akhir tahun 90-an dan awal tahun 2000. Hingga kini terdapat ratusan restoran Jepang di Singapura dan sepertiganya merupakan restoran sushi. Tetapi, sushi di Singapura hanya dikonsumsi oleh beberapa kalangan masyarakat saja (Ming, 2001).

Demikian pula sushi juga telah menjadi populer di Indonesia. Seperti di Singapura, kepopuleran sushi berkaitan pula dengan kepopuleran budaya populer Jepang di Indonesia. Budaya populer Jepang memang telah menjadi *booming* di Indonesia. Hingga kini para penggemar budaya populer Jepang terbilang cukup banyak. Hal ini dapat kita lihat dari pelbagai festival Jepang yang diadakan, *Harajuku Style*, dan fenomena munculnya band-band beraliran Japan Rock. *Booming*-nya budaya populer juga meningkatkan konsumsi barang-barang Jepang, salah satunya adalah makanan, karena makanan merupakan salah satu hal yang dapat menarik perhatian para penggemar. Selaras dengan perkembangan budaya populer tersebut, sushi pun menjadi semakin populer. Banyak dari produk budaya populer Jepang seperti *anime* dan *manga* yang memperkenalkan sushi. Sekarang ini telah banyak restoran Jepang yang dibuka, salah

satunya adalah restoran sushi. Restoran-restoran ini banyak terdapat di pelbagai kota besar di Indonesia (Yuli, 2006).

Sushi dalam Perspektif Ekonomi

Pada tahun 1990-an dan awal 2000-an, konsumsi sushi telah menjadi budaya global atau mengalami globalisasi, terutama pada kalangan anak muda terutama perempuan—kelompok usia dengan daya konsumsi yang kuat dan kemampuan adaptasi yang tinggi (Ming, 2001). Dengan adanya globalisasi ini, maka arus perekonomian juga ikut bergerak.

Perikanan tangkap di perairan Mediterranean terutama untuk tuna sirip biru akhir-akhir ini mengalami eksploitasi besar-besaran, untuk memenuhi kebutuhan ikan segar, beku dan tuna yang telah diproses untuk seluruh dunia, terutama Jepang, diikuti Eropa barat dan Amerika Serikat (Crescimannodan Di Trapani, 2007). Ekspansi dan industrialisasi perikanan tuna sirip biru di Mediterranean saat ini adalah sesuatu yang fenomenal. Proses ini merupakan bagian dari pertumbuhan global pasar sushi dan sashimi yang muncul pada akhir abad ke 20. Dengan sangat meyakinkan, sebagai pasar utama tuna sirip biru, Jepang telah menjadi pusat pendorong ekspansi ini (Bregazzi, 2006; Crescimanno and Di Trapani, 2007).

Nilai konsumsi dan impor Jepang terhadap tuna sirip biru jauh melebihi negara lain. Pada tahun 2005, Jepang mengimpor 55% dari keseluruhan Atlantic bluefin tuna (ABFT)(Di Trapani 2007). Apabila dikurskan ke dalam US dollar, impor Jepang diperkirakan mencapai 75% dari keseluruhan nilai impor global tuna sirip biru (Crescimanno and Di Trapani 2007).

Dengan pertumbuhan ekonomi Jepang pada era pasca perang dunia ke II, permintaan tuna sirip biru untuk sushi dan sashimi meningkat dengan dramatis dan terjadi eskalasi harga yang sangat tinggi mengikuti pembengkakan dari permintaan (Safina 1998; WWF 2002). Potongan tertentu dari tuna sirip biru berharga sangat tinggi dan dijual dalam bentuk yang beragam. Di Jepang, bagian perut tuna yang berlemak, dijual sebagai *toro*, menjadi makanan yang paling lezat dengan harga termahal (Bestor 2004).

Pada puncaknya, satu porsi sushi/sashimi kualitas tinggi dapat dengan mudah dijual seharga 50 sampai 100 US dollar atau bahkan lebih di restoran Jepang yang berkelas (Bestor 2001). Akhir-akhir ini, di Tsukiji, pasar ikan yang terkenal di Jepang, harga pasar tuna sirip biru mencapai harga tertinggi dalam sejarah yaitu \$900 per-kilo (Ellis 2008; Miyake et al. 2003). Sebagai contoh, pada acara lelang di Tsukijitahun 2009, seekor tuna sirip biru seberat 128 kg terjual \$820 per kg, dan rekor harga seekor tuna sirip biru mencapai lebih dari \$200.000 (Wright 2009).

Tingkat konsumsi dan permintaan tuna sirip biru yang tinggi di pasar Jepang benar benar dimanfaatkan oleh negara-negara di kawasan Mediterranean yang notabene menjadikan sektor perikanan sebagai sumber penghasilan utama (Crescimanno and Di Trapani 2007).

Table 1: Recorded Japanese Imports of ABFT in tons and values⁶ (NOAA 2010)⁷.

	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Fresh	9,966	9,882	7395	5114	4,351	5,834
Frozen	6,624	4,220	5355	6283	4,178	3,991
Frozen Fillet	8,841	10,466	15542	13451	13,627	13,198
Total (Tons)	25,431	24,568	28,292	24,848	22,156	23,023
Millions of Yen	53,175	52,527	64664	63267	68,172	57,221
Millions of Dollars	492.36	477.52	557.45	536.16	577.73	484.92

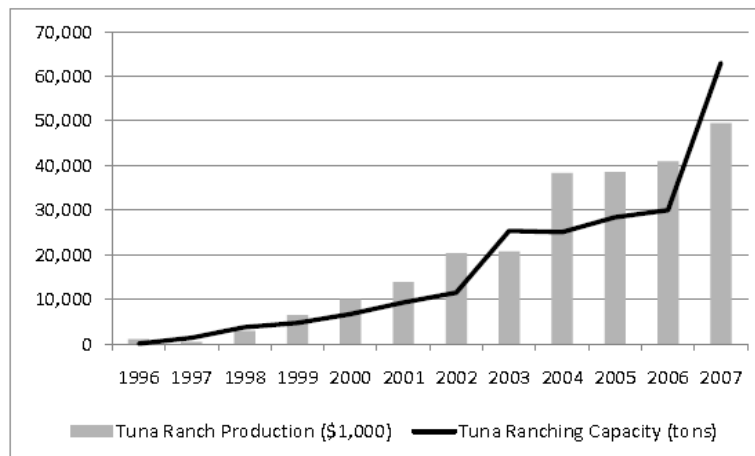
Menurut laporan Kantor Regional Barat Daya NOAA antara tahun 2004 sampai 2009, rata-rata impor Atlantic Blue Fin Tuna (ABFT) Jepang per tahun mencapai 22.500 ton (NOAA 2010). Nilai impor selama enam tahun rata rata mencapai \$531 juta per tahun. Namun, impor Jepang seharusnya lebih tinggi daripada data yang dikeluarkan NOAA, hal ini berkaitan dengan penangkapan ikan ilegal, tidak dilaporkan dan tidak mengikuti regulasi (Bregazzi 2005; Volpe 2005; WWF 2008).

Pada akhir abad ke 20, konsumsi global ikan meluas, hal ini memacu perkembangan sektor aquaculture. Perikanan tangkap sudah tidak mampu lagi memenuhi permintaan pasar

(Bailey, Jentoft, and Sinclair 1996; UN FAO 2007). Terinspirasi oleh pertumbuhan pasar dalam produk aquaculture dan metode industrialisasi sektor perikanan, maka diadopsilah sistem "bluefin tuna farming/ Tuna Ranch production" yaitu pergeseran dari "capture-based aquaculture" ke sistem perikanan semi budidaya (Ottolenghi et al. 2004).

Suplai global dari sistem *ranch*ed bluefin tuna mencapai lebih dari 20.000 ton sampai dengan tahun 2000, sekitar 50% dipenuhi oleh negara-negara Mediterranean (Miyake et al. 2003).

Graph 4: Recorded Tuna Ranch Production and Capacity (ICCAT 2007c; Miyake et al. 2003; UN FAO 2010)



Daftar Pustaka

- Bestor, Theodore C. 2000. *How Sushi Went Global*, Foreign Policy. 121.hlm. 55-56
- Bestor, Theodore C. 2001. "Supply-Side Sushi: Commodity, Market, and the Global City." *American Anthropologist* 103:76-95.
- Bestor, Theodore C. 2004. *Tsukiji: The Fish Market at the Center of the World*. Berkeley, CA: University of California Press.
- Bregazzi, Roberto M. 2005. *The Tuna Ranching Intelligence Unit*. Retrieved February 1, 2008 (<http://assets.panda.org/downloads/thetunaranachingintelligenceunit2004.pdf>).
- Bucci, C., Gallotta, S., Morra, I., Fortunato, A., Ciacci, C., & Lovino, P. (2013). Anisakis, just think about it in an emergency! *International Journal of Infectious Diseases*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23850538>
- Celine Jiyun Lee, Helen Heacock. 2007. Safety and pH Measurements of Sushi Rice in Japanese Restaurants in Burnaby BC, Canada
- Centers for Disease Control and Prevention.(2006). Staphylococcal Food poisoning. Retrieved from http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/staphylococcus_food_g.htm

- Corson, Trevor. 2007. *The Zen of Fish: The Story of Sushi, from Samurai to Supermarket*. New York: Harper Collins. Paperback Edition: 2008. *The Story of Sushi: An Unlikely Saga of Raw Fish and Rice*. New York: Harper Perennial.
- Crescimanno, Maria, and Anna M. Di Trapani. 2007. *Pesca e Allevamento del Tonno Rosso Mediterraneo*. Palermo, Italy: Università degli Studi di Palermo.
- Di Trapani, Anna M. 2007. "Il Mercato del Tonno Rosso." Pp. 57-75 in *Pesca e Allevamento del Tonno Rosso Mediterraneo*, edited by Maria Crescimanno and Anna Maria Di Trapani. Palermo, Italy: Università degli Studi di Palermo.
- Feng, Yang. 1997. *Eastern Standard Time*. Boston: Mariner. hlm. 145-146
- Forsythe, S. J. (2010). *The Microbiology of Safe Food. 2nd Edition*. New York: Blackwell Publishing Ltd. Pp. 69-70
- Gilbert, R.J., Stringer, M.F., & Peace, T.C. 1974. The survival and growth of *Bacillus cereus* in boiled and fried rice in relation to outbreaks of food poisoning. *The Journal of Hygiene*. 73(3): 433-444
- Haque, A. & Russell, N.J. 2005. Phenotypic and genotypic characterisation of *Bacillus cereus* isolates from Bangladeshi rice. *International Journal of Food Microbiology*. 98: 23-34.
- Jain, S., Chen, L., Dechet, A., Hertz A.T., Brus, D.L., Hanley, K., Wilson, B., Frank, J., Greene, K.D., Parsons, M., Bopp, C.A., Todd, R., Hoekstra, M., Mintz, E.D., & Ram, P.K. 2008. An outbreak of enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with sushi restaurants in Nevada, 2004. *Clinical Infectious Diseases*. 47(1):1-7
- Kotiranta, A., Lounatmaa, K., & Haapasalo, M. 2000. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and Infection*. 2(2), 189-198.
- Labbe, R. G., & Garcia, S. 2001. *Guide to foodborne pathogens*. New York: John Wiley and Sons, Inc. p. 52-59.
- Miyake, Peter M., José M. De la Serna, Antonio. Di Natale, Andreina Farrugia, Ivan Katavic, Naozumi Miyabe, and Vjekoslav Ticina 2003. "General Review of Bluefin Tuna Farming in the Mediterranean Area." *ICCAT Collective Volume of Scientific Papers* 55(1):114-124. Retrieved January 28, 2008 (http://www.iccat.int/en/pubs_CVSP.htm).
- Ng, Wai-ming. 2001. *Popularization and Localization of Sushi in Singapore: An Ethnography Survey*. New Zealand Journal of Asian Studies 3. hlm. 7-19
- NSW Food Authority. 2008. Report on food handling practices and microbiological quality of sushi in Australia. Retrieved from <http://www.foodauthority.nsw.gov.au/Documents/science/Microbiological-quality-of-sushi-in-Australia.pdf>
- Ottolenghi, Francesca, Cecilia Silvestri, Paola Giordano, Alessandro Lovatelli, and Michael B. New. 2004. *Capture-Based Aquaculture: The Fattening of Eels, Groupers, Tunas, and Yellowtails*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Safina, Carl. 1998. *Song for the Blue Ocean: Encounters Along the World's Coasts and Beneath the Seas*. New York: Henry Holt.

- Sakanari, J.A., &McKerrow, J.H., 1989. Anisakiasis.*American Society of Microbiology.Clinical Microbiology Review*.2(3).pp.278-284.
- Sand, Jordan. "How Tokyo Invented Sushi." In *Food and the City*, edited by DorothéeImbert. Washington, DC: Dumbarton Oaks, 2014.
- Sushi Encyclopedia.(2007). History of sushi.Retrieved from http://www.sushiencyclopedia.com/sushi/history_of_sushi.html
- WWF. 2002. *Tuna at Risk in Mediterranean Gold Rush*. Madrid, Spain: WWF - World Wildlife Fund forNature. Retrieved June 3, 2007 (http://www.panda.org/what_we_do/where_we_work/mediterranean/news/?4686/Tuna-at-risk-in-Mediterranean-gold-rush).
- Yuli, S. K. 2006. *Sushi Di RestoranjepangYanagi Sushi Jogjakarta*.Tugas Akhir. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.