

Perkembangan metode deteksi bakteri *Bacillus cereus* melalui teknologi spektroskopi *infrared*

Inas Suci Rahmawati^{1*}, Diah Chandra Aryani¹

¹Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

*Alamat email penulis koresponden: inassuci@apps.ipb.ac.id

Abstrak

Kelompok *Bacillus cereus* (atau dikenal pula sebagai *B. cereus sensu lato*) merupakan kelompok bakteri dengan kekerabatan genetik yang dekat. Beberapa *strain* dari kelompok *B. cereus* dapat menyebabkan penyakit bawaan pangan sehingga menjadi perhatian dalam bidang keamanan pangan. Perkembangan metode deteksi *B. cereus* di bidang pangan terus terjadi, salah satunya adalah menggunakan teknologi spektroskopi seperti *Fourier-transform Infrared* (FTIR). FTIR merupakan metode yang relatif cepat, tidak merusak sampel, dan tidak memerlukan persiapan yang rumit. Studi literatur ini dilakukan untuk menelaah secara sistematis perkembangan metode deteksi berdasarkan teknologi FTIR untuk mengidentifikasi bakteri, khususnya *B. cereus*. Penelusuran literatur dilakukan berdasarkan pedoman dari *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses* (PRSIMA). Sebanyak 17 artikel ilmiah memenuhi kriteria inklusi sehingga diikutsertakan dalam studi literatur. FTIR dapat digunakan untuk membedakan bakteri *B. cereus*, namun memerlukan analisis kemometrik untuk memperoleh data yang bermakna. Secara umum, FTIR berpotensi digunakan sebagai alternatif untuk analisis taksonomi, tetapi memerlukan pengembangan pangkalan data spektra sehingga dapat menjadi alternatif metode deteksi yang telah ada. Perbandingan hasil analisis FTIR dengan metode lainnya, seperti menggunakan instrumen *Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight* (MALDI-TOF) ataupun analisis genomik, diperlukan untuk mengetahui ketepatan dan keselarasan penentuan dengan metode FTIR. Berdasarkan hasil identifikasi dan skrining pada tahap pencarian literatur, polimer yang disekresikan oleh *B. cereus* (seperti *polyhydroxylalkanoate*) mungkin juga dapat digunakan sebagai faktor diskriminator namun hal ini memerlukan penelitian lebih lanjut.

Kata Kunci: *Bacillus cereus*, FTIR, identifikasi, metode cepat, patogen

1. PENDAHULUAN

Penyakit bawaan pangan (*foodborne illness*) yang disebabkan oleh kontaminasi mikroorganisme patogen masih menjadi masalah kesehatan manusia. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan ada sekitar 600 juta orang di seluruh dunia yang jatuh sakit setelah mengonsumsi pangan yang terkontaminasi (WHO 2022). Kontaminasi pada pangan dapat terjadi sepanjang rantai produksi dan distribusi pangan (Mafe et al. 2024). Penyakit bawaan pangan menimbulkan gejala-gejala ringan (sakit kepala, diare, dehidrasi, muntah, dan mual) hingga kematian. Dampak yang disebabkan oleh kontaminasi mikroorganisme patogen pada pangan terutama dapat berakibat parah pada populasi rentan, meliputi bayi, anak-anak, lansia, dan pengidap sistem imunitas lemah (Gao et al. 2024). Beberapa mikroorganisme patogen yang umum ditemukan menjadi penyebab dari kejadian luar biasa (*outbreak*) adalah *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter sp.*, *C. perfringens*, *serogroups Escherichia coli* patogen, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus*, dan *Vibrio spp.* (Aladhadh et al. 2023).

Bacillus cereus menjadi salah satu perhatian karena ditemukan melimpah di alam dan kemampuannya bertahan pada berbagai kondisi pengolahan, sehingga sering dijumpai sebagai kontaminan pada pangan (Carlin et al. 2006; Doellinger et al. 2020; Soni et al. 2024). *B. cereus* merupakan kelompok bakteri Gram positif pembentuk endospora yang dapat menyebabkan dua jenis

sindrom penyakit gastrointestinal, yaitu emetik dan diare. Sindrom emetik disebabkan oleh tertelannya toksin emetik tahan panas (*cereulide*) yang dihasilkan *B. cereus* di pangan, sedangkan sindrom diare disebabkan oleh sel vegetatif *B. cereus* yang ikut terkonsumsi bersama dengan pangan dan menghasilkan enterotoksin di dalam usus halus (Granum and Lund 1997; Dietrich et al. 2021). Walaupun *B. cereus* cenderung menyebabkan penyakit dengan gejala yang ringan, beberapa kasus telah dilaporkan menyebabkan gejala parah hingga kematian (Bottone 2010; Naranjo et al. 2011). Di Indonesia, *B. cereus* diduga menjadi penyebab KLB keracunan pangan terbanyak kedua, setelah *E. coli* (Arisanti et al. 2018). Dampak *B. cereus* dalam berbagai kasus kejadian luar biasa diduga masih belum banyak diketahui dan tidak terdokumentasi karena kurangnya pengawasan sistematis dan seringkali salah didiagnosa karena kemiripan gejala yang disebabkan oleh *S. aureus* dan *C. perfringens* (Ramaraio 2020). Oleh karena itu, metode deteksi *B. cereus* yang cepat dan selektif menjadi penting dipelajari untuk mengevaluasi resiko kontaminasi *B. cereus* (Soni et al. 2024), selain karakterisasi germinasi dan spora *B. cereus* yang diperlukan untuk menerapkan pengolahan pangan yang tepat sehingga pertumbuhan *B. cereus* di pangan dapat dihambat atau dieliminasi.

Metode deteksi *B. cereus* secara konvensional dilakukan menggunakan metode pencawan pada media agar spesifik *Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin Agar* (MYPA) dengan acuan pedoman yang telah disusun oleh BAM (Tallent et al. 2020) ataupun ISO 7932:2004/Amd 1:2020. Metode pencawan konvensional masih menjadi metode standar dengan efisiensi dan akurasi yang baik, namun metode ini juga cenderung memakan tenaga, memerlukan waktu yang lama, media dan bahan yang relatif mahal, serta teknisi yang terlatih dalam pengujian mikrobiologi. Kelemahan tersebut mendorong pengembangan metode deteksi *B. cereus* yang lebih cepat, salah satunya adalah menggunakan metode molekuler berbasis *polymerase chain reaction* (PCR). Metode berbasis PCR mendeteksi keberadaan gen-gen tertentu sehingga dapat mendiskriminasi *B. cereus* dari bakteri basil lainnya, namun metode untuk mendeteksi keberadaan toksin tertentu dan karakterisasi strain spesifik dari kelompok *B. cereus* saat ini belum terstandarisasi (Vidic et al. 2020). Ekstraksi DNA dari spora juga dapat menjadi tantangan karena resistensi yang tinggi terhadap metode lisis kimia dan enzimatis, walaupun kelemahan ini dapat diatasi dengan germinasi spora sehingga DNA dapat diekstraksi dari sel vegetatif. Penggunaan instrumen PCR juga memerlukan teknisi yang terlatih dan terkadang mengalami kesalahan amplifikasi, terutama saat menggunakan matriks kompleks (Ramaraio et al. 2020). Diskriminasi *strain* lebih tepat menggunakan analisis genomik berbasis *whole genome sequencing* (WGS), namun metode ini pun memiliki kekurangan yang sama, yaitu kurangnya standarisasi terkait metode identifikasi secara genomik. Hal ini menjadi tantangan dalam penentuan taksonomi karena *B. cereus* (atau dikenal pula sebagai *B. cereus sensu lato*) terdiri dari *B. cereus sensu stricto* dan sekelompok spesies bakteri lainnya dengan kekerabatan yang dekat, termasuk *B. anthrax*, *B. cytotoxicus*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis*, *B. toyonensis*, dan *B. weihenstephanensis*. Walaupun secara genetik memiliki kedekatan, karakteristik virulensi kelompok bakteri ini sangat bervariasi (Carrol et al. 2022). Kombinasi metode genomik dengan fenotip untuk mendeteksi keberadaan toksin ataupun efek sitotoksik disertai dengan analisis metadata lingkungan dan epidemiologi kemungkinan lebih akurat untuk mendeteksi isolat patogen. Metode-metode deteksi *B. cereus* dengan teknologi berbeda terus mengalami perkembangan, seperti contoh berbasis antibodi untuk pengembangan biosensor. Keberadaan toksin *B. cereus* juga dapat dideteksi secara kimia menggunakan alat seperti *gas chromatography* (GC), *high-performance liquid chromatography* (HPLC), *mass spectrometry* (MS), *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), dan biosensor (Quintanilla-Villanueva et al. 2024).

Teknologi berbasis spektroskopi, seperti *Fourier Transform-Infrared* (FTIR), dapat menjadi salah satu metode yang dapat digunakan untuk identifikasi dan karakterisasi senyawa tertentu secara cepat. Kelebihan dari FTIR adalah analisis tidak merusak sampel dan tidak memerlukan persiapan sampel yang rumit. FTIR dapat mengkarakterisasi komposisi kimia dari berbagai senyawa melalui identifikasi gugus fungsional dan spektra sidik jari (Bhat 2013). Ikatan molekul dapat menyerap sinar *infrared* pada frekuensi tertentu secara spesifik sehingga menyebabkan vibrasi molekular. Selektivitas dan spesifisitas fenomena absorpsi ini ditentukan oleh karakteristik ikatan kimia pada sampel. Ikatan kimia yang berbeda (seperti ikatan C-H, O-H, dan N-H) akan menghasilkan frekuensi vibrasi yang unik saat terpapar cahaya *infrared*. Intensitas cahaya yang diserap pada setiap panjang gelombang kemudian diukur dan divisualisasikan dalam bentuk spektra. Spektra ini digunakan untuk

mengidentifikasi gugus fungsi dan struktur molekular unik (atau juga dikenal sebagai sidik jari) dari sampel untuk dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif (Qi et al. 2022; Kassem et al. 2023). Spektra *infrared* ini dapat mengidentifikasi perbedaan struktur kimia penyusun sel mikroorganisme dan senyawa toksin sehingga dapat digunakan sebagai metode deteksi. Interpretasi spektra memerlukan analisis statistik multivariat untuk dapat diperoleh data yang bermakna, umumnya menggunakan *multiple linear regression* (MLR), *principal component regression* (PCR), dan *partial least squares* (PLS) untuk meningkatkan akurasi, reproduibilitas, dan menurunkan gangguan dari sinyal latar belakang (Qi et al. 2022). Kombinasi analisis FTIR dengan sistem kecerdasan buatan (*artificial intelligent*, AI) dan pendekatan *machine learning*, seperti *artificial neural networks* (ANN) sudah dibuktikan mampu menjadi alat bantu dalam pendugaan mikroorganisme (Bağcıoğlu et al. 2019). Penelitian ini bertujuan untuk menelaah secara sistematis (*systematic literature review*) terkait perkembangan metode deteksi *B. cereus* menggunakan instrumen FTIR sebagai alternatif metode deteksi konvensional.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Perumusan masalah

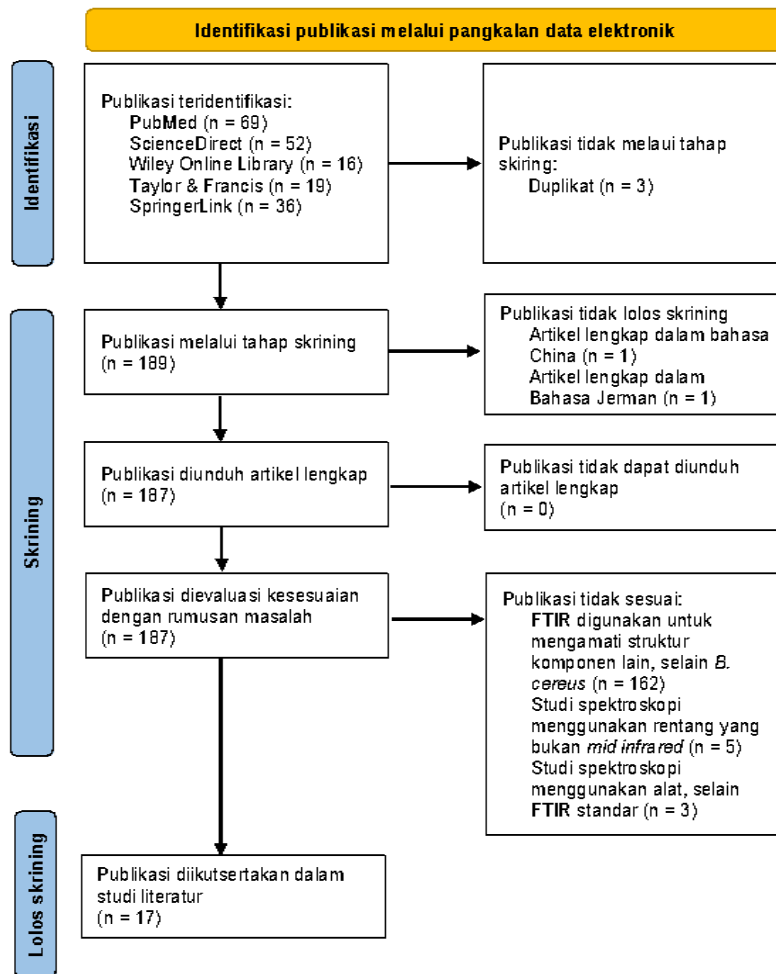
Masalah yang akan diangkat dalam *review* ini adalah: apakah analisis FTIR dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *B. cereus*?

2.2 Strategi pencairan literatur

Pencarian literatur dilakukan secara sistematis sesuai dengan pedoman dari *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses* (PRISMA) (Page et al. 2021). Pencarian literatur dikhususkan untuk publikasi berbahasa Inggris yang diterbitkan dari rentang tahun 1990 – 2025 menggunakan pangkalan data elektronik PubMed, ScienceDirect, Wiley Online Library, Taylor & Francis, dan SpringerLink dengan kata kunci berupa “*Bacillus cereus*”, “FTIR atau FT-IR”, serta “*Typing* atau *Detection* atau *Identification*” dengan pembatasan pada artikel ilmiah berupa hasil penelitian (*research papers*). Artikel ilmiah yang relevan terkait dengan rumusan masalah, yaitu identifikasi *B. cereus* menggunakan instrumen FTIR, dikompilasi dengan bantuan aplikasi Microsoft Excel dan Mendeley Reference Manager. Penelusuran melalui referensi yang digunakan oleh masing-masing artikel ilmiah juga dilakukan untuk menjaring sebanyak mungkin artikel terkait. Kriteria inklusi dan eksklusi yang digunakan dirangkum pada Tabel 1. Pencarian dilakukan sebanyak 2 kali dengan tanggal terakhir akses dilakukan pada 28 April 2025. Diagram alir pencarian literatur digambarkan oleh Gambar 1.

Tabel 1 Kriteria inklusi dan eksklusi.

No.	Kriteria inklusi	Kriteria eksklusi
1.	Artikel dalam Bahasa Inggris.	Artikel dalam bahasa lain.
2.	Analisis FTIR dilakukan untuk mendeteksi bakteri <i>B. cereus</i> dan/atau membedakan antar <i>strain</i> dari kelompok <i>B. cereus</i> .	Analisis FTIR dilakukan untuk mengkarakterisasi sampel selain <i>B. cereus</i> , seperti untuk analisis struktur polimer.
3.	Analisis spektroskopi dilakukan pada rentang <i>mid infrared</i> (4,000–400 cm ⁻¹).	Analisis FTIR dilakukan untuk mengamati perbedaan struktur <i>B. cereus</i> setelah mengalami perlakuan tertentu.
4.		Analisis FTIR dikombinasikan dengan instrumen lainnya untuk deteksi, seperti <i>photoacoustic</i> atau <i>mass spectrometry</i> .
5.		Analisis spektroskopi dilakukan pada rentang di luar <i>mid infrared</i> (4,000–400 cm ⁻¹).



Gambar 1 Diagram alir pencarian literatur (berdasarkan Page et al. 2021)

3. HASIL dan PEMBAHASAN

3.1 Pemilihan literatur

Pemilihan kata kunci menjadi salah satu tantangan untuk menyaring literatur yang relevan terkait penggunaan FTIR sebagai metode deteksi *B. cereus*. Dalam tahap Skining (Gambar 1), sebanyak 162 artikel tidak diikutsertakan dalam tahap selanjutnya karena menganalisis sampel yang bukan sel bakteri *B. cereus*. Hal ini umum ditemukan untuk artikel ilmiah yang mempelajari eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *B. cereus* (seperti produksi *polyhydroxyalkanoates*) ataupun digunakan untuk karakterisasi sampel atau bahan yang digunakan pada penelitian tersebut (seperti aktivitas antibakteri suatu komponen terhadap *B. cereus* atau kemampuan *Bacillus* mendegradasi polimer). Analisis FTIR merupakan analisis kimia universal yang dapat digunakan secara luas di berbagai disiplin keilmuan untuk mempelajari struktur dari komponen yang berbeda (Gong et al. 2024). Sifat universal dari aplikasi FTIR ditunjukkan oleh berbagai artikel ilmiah yang telah dipublikasikan, meliputi aplikasi FTIR dalam analisis sampel biologi seperti sel kanker (Movasaghi et al. 2008), analisis otentikasi lemak di produk pangan (Rohman et al. 2020), dan karakterisasi bahan (Gong et al. 2024). Sebagai akibatnya, pada tahap pertama pencarian literatur dapat menghasilkan 187 publikasi, namun hanya 17 publikasi yang diikutsertakan dalam studi literatur ini.

3.2 Karakteristik studi

Artikel ilmiah yang sesuai dengan rumusan masalah memiliki karakteristik studi dan hasil penelitian yang ditampilkan pada Tabel 2. Deteksi *B. cereus* menggunakan FTIR umumnya dilakukan untuk keseluruhan sel bakteri utuh (*intact whole cell analysis*). Hasil ekstraksi *fatty acid methyl esters* (FAMES) dari sel bakteri juga telah diteliti mampu digunakan sebagai diskriminator untuk membedakan berbagai bakteri Gram positif dan negatif (Whittaker et al. 2003), namun tidak diikutsertakan dalam studi literatur ini karena tidak menganalisis sel bakteri utuh. Secara umum, dapat dilihat bahwa analisis FTIR dapat digunakan untuk identifikasi dan klasifikasi kelompok *B. cereus*. Hasil yang diperoleh juga selaras dengan analisis *B. cereus* berdasarkan metode lain, seperti analisis berbasis genetik.

Tabel 2 Ringkasan perkembangan metode deteksi *B. cereus* menggunakan FTIR.

No.	Penulis	Tahun publikasi	Hasil penelitian
1.	Beattie et al.	1998	FTIR dikombinasikan dengan analisis multivariat <i>canonical</i> dapat digunakan secara efektif untuk membedakan spektra <i>B. cereus</i> , <i>B. mycoides</i> , dan <i>B. thuringiensis</i> pada tingkat spesies. Tetapi metode ini kurang tepat untuk identifikasi sampai <i>strain</i> . Tingkat ketepatan identifikasi mencapai > 95%.
2.	Lin et al.	1998	Tidak ditemukannya perbedaan pola dari spektra FTIR <i>B. cereus</i> , <i>B. mycoides</i> , dan <i>B. thuringiensis</i> pada rentang 3,000-2,800 cm ⁻¹ walaupun analisis asam lemak merupakan salah satu analisis fenotip untuk membedakan kelompok <i>B. cereus</i> . Puncak unik yang menandakan <i>B. cereus</i> ditemukan pada 1,738 dan 1,740 cm ⁻¹ yang terkait dengan gugus amida. Gugus ini diduga berpotensi menjadi pembeda antar anggota kelompok <i>B. cereus</i> .
3.	Goodacre et al.	2000	Spora <i>B. cereus</i> dapat diamati oleh FTIR berdasarkan vibrasi <i>dipicolinic acid</i> (DPA) pada 1,443 cm ⁻¹ dan puncak ini didominasi oleh cincin <i>pyridine</i> . Vibrasi spesifik ini dapat menjadi biomarker untuk sporulasi <i>B. cereus</i> .
4.	Gupta et al.	2004	Klasifikasi yang kurang memuaskan diperoleh di area 1,750 – 2,800 cm ⁻¹ dan 3,200 – 4,000 cm ⁻¹ karena gangguan CO ₂ dan air. Daerah sidik jari pada 1,750 – 600 cm ⁻¹ digunakan sebagai <i>input</i> untuk analisis <i>artificial neural networks</i> (ANNs). Model yang diperoleh dapat digunakan untuk membedakan <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Salmonella</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Yersinia enterocolitis</i> , dan <i>Shigella boydii</i> , sekaligus mengkuantifikasi jumlahnya pada rentang 10 ³ – 10 ⁹ <i>colony forming unit</i> (CFU)/mL. Hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata dengan hasil pencawanan.
5.	Ehling-Schulz et al.	2005	Analisis turunan kedua (<i>second derivative</i>) dari data spektra dapat mengelompokkan <i>B. cereus</i> tipe emetik secara terpisah dari penyebab diare. Hasil ini didukung juga oleh profil protein menggunakan SDS-PAGE (<i>sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis</i>). <i>B. cereus</i> penyebab sindrom diare memiliki heterogenitas yang lebih tinggi dibandingkan penyebab sindrom emetik.
6.	Al-Holy et al.	2006	Vibrasi spesifik untuk spesies dan <i>strain</i> ditemukan pada rentang 1,750 – 2,800 cm ⁻¹ untuk membedakan <i>B. cereus</i> dari <i>Salmonella enteritica</i> , <i>E. coli</i> , dan <i>Listeria</i> spp. Pemisahan kelompok bakteri tersebut terlihat jelas pada tingkat genus dan spesies menggunakan <i>principal component analysis</i> (PCA). Klasifikasi yang benar dapat mencapai hingga 94%, sehingga mengkonfirmasi kemampuan FTIR untuk mendeteksi perbedaan biokimia dari sel bakteri berbeda.
7.	Carlin et al.	2006	Menggunakan FTIR untuk <i>strain typing</i> dari berbagai isolat <i>B. cereus</i> .
8.	Pan et al.	2007	<i>B. cereus</i> mengandung gugus fungsi berupa karboksil, hidroksil, fosfat, amino, dan amida yang berperan dalam biosorpsi ion timbal dan tembaga.

No.	Penulis	Tahun publikasi	Hasil penelitian
9.	Al-Khaidi <i>et al.</i>	2009	FTIR dapat membedakan bakteri pada tingkat genus dan spesies tetapi kurang tepat untuk <i>strain</i> . Pengelompokan lebih baik diperoleh jika menggunakan area spektra tertentu. Pengembangan otomatisasi berbasis <i>microarray</i> dimungkinkan untuk mempermudah analisis FTIR.
10.	Mietke <i>et al.</i>	2010	<i>Strain B. cereus</i> yang memiliki aktivitas sebagai probiotik dapat terpisah jelas dari <i>wild type B. cereus</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>B. mycoides</i> , dan <i>B. weihenstephanensis</i> menggunakan <i>hierarchical cluster analysis</i> (HCA). Pembeda terletak pada rentang 3,000 – 2,800 cm ⁻¹ (asam lemak), 1,200 – 900 cm ⁻¹ (karbohidrat), dan 900 – 700 cm ⁻¹ (sidik jari). Hasil ini terutama diperoleh saat menggunakan turunan kedua dari data spektra.
11.	Lücking <i>et al.</i>	2013	Menggunakan FTIR untuk mengidentifikasi bakteri pembentuk spora pada produk susu.
12.	Contzen <i>et al.</i>	2014	Menggunakan FTIR dikombinasikan dengan ANNs untuk membedakan isolat <i>Bacillus</i> pada produk olahan kentang, terutama kelompok <i>Bacillus cytotoxicus</i> .
13.	Ghosh <i>et al.</i>	2015	Tidak ditemukan puncak 1,739 cm ⁻¹ untuk identifikasi <i>Bacillus</i> seperti halnya penelitian Lin <i>et al.</i> (1998), namun ditemukan puncak pada 1,655 dan 1,545 cm ⁻¹ yang menunjukkan potensi sebagai penanda spesifik spesies. Hal ini diduga karena perbedaan jenis media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Kelompok bakteri <i>B. cereus</i> memiliki kemiripan spektra, sehingga memerlukan proses derivatisasi untuk dapat dianalisis lebih lanjut. Detektor FTIR juga mempengaruhi sensitivitas dari hasil analisis.
14.	Johles <i>et al.</i>	2018	Area spektra 1,500-800 cm ⁻¹ digunakan untuk analisis HCA untuk mengidentifikasi dan mempelajari prevalensi <i>B. thuringiensis</i> yang berasal dari biopestisida, pangan, dan terkait dengan kejadian keracunan pangan.
15.	Bağcıoğlu <i>et al.</i>	2019	Area spektra 3,100 – 2,800 dan 1,800 – 700 cm ⁻¹ digunakan pengolahan data spektra dari berbagai macam kelompok <i>B. cereus</i> . PCA tidak mampu membedakan kelompok <i>B. cereus</i> , namun model ANN yang dikembangkan memiliki ketepatan identifikasi 98 hingga 100%.
16.	Radmehr <i>et al.</i>	2020	Hasil FTIR memiliki tingkat kesamaan yang tinggi menggunakan ERIC-PCR (<i>Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction</i>) yang digunakan sebagai metode referensi genomik.
17.	Outurquin <i>et al.</i>	2023	Analisis FTIR digunakan untuk mempelajari potensi kontaminasi silang <i>B. cereus</i> dari lingkungan ke air susu ibu melalui analisis <i>clustering</i> . Analisis FTIR berpotensi digunakan sebagai metode cepat untuk keperluan memonitor kondisi lingkungan.

Tabel 2 menunjukkan bahwa FTIR telah banyak digunakan dalam klasifikasi kelompok *Bacillus cereus*. Kemampuan FTIR untuk membedakan *strain* (*typing*) telah diketahui terbatas pada bakteri yang memiliki variasi permukaan yang berkorelasi dengan *strain evolution* (Novais *et al.* 2019). *B. cereus* memiliki komposisi karbohidrat dinding sel yang berkorelasi dengan kedekatan filogenetiknya (Leof *et al.* 2008) sehingga dapat dianalisis dengan baik oleh instrumen FTIR.

3.3 Metode analisis *B. cereus* menggunakan FTIR

Analisis bakteri menggunakan FTIR memiliki tahap persiapan yang minim. Walaupun standarisasi protokol untuk analisis bakteri belum ada, tetapi secara umum tahapan analisis dapat mengacu pada publikasi oleh Yang *et al.* (2023). Empat tahapan utama dari analisis bakteri menggunakan FTIR adalah: (1) Persiapan sampel, (2) Pengujian FTIR untuk memperoleh spektra, (4) Pengolahan awal data spektra FTIR yang diperoleh, dan (4) Analisis multivariat data spektra.

Berdasarkan karakteristik studi di Tabel 2, tahap persiapan isolat bakteri *B. cereus* dapat dilakukan pada kondisi pertumbuhan dan media agar yang berbeda. Media agar yang digunakan umumnya berupa media *tryptone soy agar* (TSA) atau media *brain heart infusion agar* (BHIA), dengan kondisi suhu bervariasi antara 25°C hingga 37°C selama 18 hingga 36 jam. Perbedaan metode persiapan bakteri *B. cereus* dapat menyesuaikan kondisi dan protokol di laboratorium masing-masing. Standarisasi protokol yang digunakan (termasuk media pertumbuhan yang digunakan dan kondisi inkubasi) agar mencegah variasi spektra yang dihasilkan. Untuk meningkatkan akurasi diskriminasi strain berbeda, penting diperhatikan untuk memperoleh koloni murni tunggal yang berasal dari satu sel bakteri karena kultur campuran akan menyulitkan proses identifikasi (Yang et al. 2023). Jumlah biomassa yang diperlukan adalah 10-60 µg. Direkomendasikan untuk melakukan penggoresan kuadran untuk memperoleh koloni terpisah. Umumnya, sel bakteri dianalisis tanpa melalui perlakuan khusus. Namun, Johler et al. (2018) memberikan perlakuan ultrasonikasi untuk suspensi bakteri yang mengalami penggumpalan untuk memperbaiki kualitas spektra yang dihasilkan. Protokol khusus juga dapat diterapkan saat akan menganalisis bakteri dengan karakteristik spesifik. Contzen et al. (2014) melakukan tahap pengayaan khusus pada media *casamino acids-glucose-yeast extract* (CGY) pada suhu 50°C dan *mannitol egg yolk polymyxin* (MYP) pada suhu 50°C untuk menekan pertumbuhan *B. cereus* dan *B. thuringiensis* sehingga *B. cytotoxicus* yang bersifat toleran panas dapat dianalisis dengan spesifisitas tinggi.

Setelah isolat bakteri siap dianalisis, pengujian FTIR dilakukan berdasarkan instrumen yang digunakan. Pengukuran menggunakan FTIR memiliki 3 jenis mode yang umum yaitu, *absorbance/transmission* (A/T), *attenuated total reflectance* (ATR), dan *diffuse-reflectance* (DR). Perbedaan di antara ketiganya terkait dengan teknik pengukuran, sumber cahaya, dan detektor (Pasiczna-Patkowska et al. 2025). Mode A/T melakukan pengukuran spektra berdasarkan jumlah sinar yang diabsorpsi ataupun ditransmisikan oleh sampel. Teknik persiapan sampel pada mode A/T cenderung lebih memakan waktu dan tenaga karena melibatkan pencampuran sampel dengan matriks transparan khusus (umumnya menggunakan KBr) untuk memperoleh pellet yang digunakan untuk analisis spektra. Kandungan air pada pellet seringkali mengganggu pembacaan spektra sampel karena munculnya puncak air yang lebar pada ~3,500 dan 1,630 cm⁻¹. Oleh karena itu, pembuatan pellet memerlukan sampel yang telah dikeringkan sebelumnya. Mode ATR dikembangkan sebagai alternatif mode A/T untuk mengukur sampel cair karena tidak menggunakan matriks dalam persiapan sampel, tetapi menggunakan kristal dengan indeks refraktif tinggi (seperti *diamond*, *germanium*, *silicon*, atau ZnSe) yang terpasang di alat secara khusus. Spektra yang dihasilkan oleh mode ATR cenderung tidak identik dengan mode AT, namun mengalami pergeseran bilangan gelombang yang dapat dikoreksi secara matematika. Mode DR atau juga dikenal sebagai DRIFTS (*Diffuse Reflectance Infrared Transform Spectroscopy*) umumnya digunakan untuk sampel padat dengan mengukur sinar yang terpantul (mengalami refleksi) dari permukaan sampel (Pasiczna-Patkowska et al. 2018). Ketiga mode pengukuran tersebut dapat digunakan untuk menganalisis sel bakteri, namun mode AT memiliki kelebihan karena rasio *signal-to-noise* yang lebih tinggi dan lebih umum digunakan dalam analisis *infrared*, terutama mode transmisi (Yang et al. 2023). Pengukuran spektra dapat dilakukan dengan ketiga mode tersebut dan menyesuaikan dengan spesifikasi instrumen FTIR masing-masing. Selain FTIR konvensional, instrumen FTIR yang dikembangkan khusus untuk melakukan proses *typing* bakteri dan dilengkapi dengan pangkalan data (*database*) telah dikembangkan dan dikomersialkan, yaitu IR Biotyper® dari Bruker Daltonik GmbH.

Parameter pengukuran spektra FTIR untuk bakteri umumnya dilakukan dengan resolusi 4 cm⁻¹ dengan rentang bilangan gelombang 4,000-500 cm⁻¹ atau 4,000-600 cm⁻¹. Al-Khaldi et al. (2009) dan Johler et al. (2018) menggunakan resolusi yang sedikit berbeda, yaitu 8 cm⁻¹ dan 6 cm⁻¹. Saat mengukur spektra, gangguan dari latar belakang harus ditekan seminimal mungkin, termasuk gangguan dari pembacaan spektra udara, uap air, dan media pertumbuhan yang dapat terbawa di sampel. Hasil pengukuran spektra sampel bakteri harus dikurangi dengan spektra dari latar belakang untuk menghasilkan data mentah yang akan dianalisis lebih lanjut. Instrumen FTIR saat ini umumnya telah dilengkapi dengan aplikasi bawaan yang dapat membantu menghilangkan spektra dari latar belakang dengan cara melakukan pengukuran latar belakang terlebih dahulu sebelum pengukuran spektra sampel. Sinyal dari pengukuran media pertumbuhan yang terbawa ke sampel sulit

dihilangkan, sehingga untuk meminimalkan gangguan tersebut pertumbuhan bakteri yang diuji disarankan dilakukan pada media yang sama.

Data mentah spektra yang diperoleh tidak bisa langsung dianalisis menggunakan multivariat untuk mengurangi variasi dari pembacaan spektra. Hal ini biasanya dilakukan dengan melakukan tahapan *baseline shift correction*, *Savitzky-Golay smoothing*, *normalization*, dan *second derivatization* (Yang et al. 2023). Perlakuan awal ini penting dilakukan untuk mereduksi variasi acak atau sistematis yang muncul selama pengukuran (Al-Khaldi et al. 2009). Tahapan ini umumnya dapat dilakukan menggunakan aplikasi bawaan dari alat FTIR, seperti aplikasi OPUS yang tersedia di alat FTIR yang diproduksi oleh Bruker. Terkadang data spektra tidak dianalisis secara utuh, tetapi dipotong sesuai dengan area spektra yang menjadi perhatian. Pemilihan area spektra yang optimal masih perlu diinvestigasi lebih lanjut berdasarkan jenis bakteri. Spektra bakteri dapat dibagi menjadi beberapa bagian seperti pada Tabel 3.

Tabel 3 Area spektra dan gugus fungsi terkait dalam analisis FTIR bakteri (Helm et al. 1991; Novais et al. 2019).

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Gugus fungsi terkait
3,000-2,800	Vibrasi gugus fungsi -OH dan -CH- <i>stretch</i> (asimetrik dan simetrik) pada asam lemak.
1,800-1,500	Vibrasi gugus <i>amide I</i> dan <i>amide II</i> pada protein dan peptida.
1,500-1,200	Area campuran yang terdiri dari protein, asam lemak, dan molekul yang mengandung fosfat, seperti asam nukleat, asam teikoat, dan asam lipoteikoat. Area ini diduga merupakan diskriminator kuat dalam klasifikasi bakteri.
1,200-900	Absorpsi karbohidrat yang ditemukan pada dinding sel bakteri. Area ini juga merupakan diskriminator kuat yang disarankan untuk analisis <i>strain typing</i> .
900-700	Area sidik jari (<i>fingerprint</i>) yang memiliki pola spesifik, tetapi belum atau tidak diketahui apakah terkait komponen seluler atau gugus fungsi tertentu.

FTIR menghasilkan data dalam jumlah besar yang memerlukan interpretasi dengan bantuan analisis multivariat. Analisis multivariat *unsupervised* seperti PCA dan HCA telah umum digunakan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan kemiripan pola. Metode ini dapat membedakan pada tingkat genus dan spesies, namun sering mengalami kesalahan pada tingkat *strain*. Diperlukan analisis bioinformatika yang lebih kompleks untuk dapat mengklasifikasikan bakteri pada tingkat *strain*, salah satunya adalah menggunakan analisis ANN. Berbagai penelitian pada Tabel 2 telah mencoba mengembangkan model ANN untuk identifikasi kelompok *B. cereus*. Analisis ini lebih rumit dibandingkan dengan PCA dan HCA, sehingga memerlukan kompetensi bioinformatika yang memadai.

Tantangan terbesar dari analisis spektra FTIR adalah matriks sampel yang kompleks dapat menghasilkan sinyal spektra yang saling bertumpukan sehingga menyulitkan untuk proses identifikasi (Kassem et al. 2023). Saat ini, protokol analisis dan pangkalan data (*database*) spektra FTIR untuk identifikasi mikroorganisme belum terstandarisasi dan tersedia secara luas. Pengembangan pangkalan data antar laboratorium akan sulit dilakukan karena memerlukan parameter yang sama untuk semua tahapan analisis, meliputi jenis instrumen yang digunakan, media pertumbuhan bakteri, waktu inkubasi, hingga tingkat kemurnian dari sampel (Al-Khaldi et al. 2009). Semua parameter dan penanganan sampel harus sama untuk meminimalkan perbedaan kandungan dan struktur karbohidrat, lipid, dan protein di dinding sel karena variasi eksternal yang tidak diinginkan (Oturquin et al. 2023). Optimalisasi yang bisa dilakukan saat ini adalah dengan mengukur bakteri yang telah diketahui identitasnya dan membandingkannya dengan sampel yang tidak diketahui pada kondisi pengukuran yang sama. Data tersebut lalu dikembangkan sebagai pangkalan data yang dapat digunakan di laboratorium masing-masing untuk mengidentifikasi sampel yang tidak diketahui.

Selain menggunakan data spektra sel bakteri utuh, pengelompokkan *B. cereus* berdasarkan analisis FTIR untuk hasil ekstraksi lipid seluler juga telah dikembangkan oleh Whittaker et al. (2003).

B. cereus juga dikenal dapat menghasilkan *polyhydroxyalkanoates* (PHAs) yang menjadi biopolimer dengan karakteristik fisikokimia yang berpotensi digunakan sebagai pengganti *polypropylene* (PP) dan *polyethylene* (PE) (Martínez-Herrera et al. 2023). Berbagai penelitian telah mempelajari potensi produksi PHA oleh bakteri *B. cereus*. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui kemungkinan penggunaan metode alternatif identifikasi *B. cereus* melalui deteksi komponen PHA menggunakan FTIR.

4. KESIMPULAN

FTIR dapat menjadi alternatif metode cepat untuk melakukan skrining terhadap bakteri *B. cereus*. Analisis FTIR juga cenderung lebih murah dan mudah dilakukan dibandingkan dengan pengujian konvensional yang saat ini umum dilakukan berdasarkan analisis PCR dan WGS. Namun, diperlukan kompetensi bioinformatika untuk mengolah data spektra agar dapat meningkatkan akurasi hasil identifikasi. Saat ini, model yang direkomendasikan untuk analisis multivariat dari hasil pengukuran FTIR adalah menggunakan *artificial neural networks* (ANN). Selain itu, tantangan terbesar dalam pengembangan FTIR sebagai metode analisis bakteri adalah standarisasi protokol pengukuran dan pangkalan data yang memadai untuk dapat mengidentifikasi sampel yang tidak dikenal.

DAFTAR PUSTAKA

- Aladhadh M. 2023. A Review of Modern Methods for the Detection of Foodborne Pathogens. *Microorganisms*. 11 (5): 1111. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051111>.
- Al-Holy MA, Lin M, Al-Qadiri H, Cavinato AG, Rasco BA. 2006. Classification of foodborne pathogens by fourier transform infrared spectroscopy and pattern recognition techniques. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*. 14 (2): 189-200. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4581.2006.00045.x>.
- Al-Khaldi SF, Mossoba MM, Burke TL, Fry FS. 2009. Differentiation of whole bacterial cells based on high-throughput microarray chip printing and infrared microspectroscopic readout. *Foodborne Pathogens and Disease*. 6 (8): 1001-1007. <https://doi.org/10.1089=fpd.2009.0276>.
- Arisanti RR, Indriani C, Wilopo SA. 2018. Kontribusi agen dan faktor penyebab kejadian luar biasa keracunan pangan di Indonesia: kajian sistematis (*Contribution of agents and factors causing foodborne outbreak in Indonesia: a systematic review*). *Berita Kedokteran Masyarakat (BKM Journal of Community Medicine and Public Health)*. 34 (3): 99-106. <https://doi.org/10.22146/bkm.33852>.
- Bağcıoğlu M, Fricker M, Johler S, Ehling-Schulz. 2019. Detection and Identification of *Bacillus cereus*, *Bacillus cytotoxicus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides* and *Bacillus weihenstephanensis* via Machine Learning Based FTIR Spectroscopy. *Frontiers in Microbiology*. 10: 902. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00902>.
- Beattie SH, Holt C, Hirst D, Williams AG. Discrimination among *Bacillus cereus*, *B. mycoides* and *B. thuringiensis* and some other species of the genus *Bacillus* by Fourier transform infrared spectroscopy. *FEMS Microbiology Letters*. 164 (1): 201-206. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13086.x>.
- Bhat R. 2013. Potential use of Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Identification of Molds Capable of Producing Mycotoxins. *International Journal of Food Properties*. 16 (8): 1819-1829. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.609629>.
- Bottone EJ. 2010. *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 23 (2): 382-398. <https://doi.org/10.1128/CMR.00073-09>.
- Carlin F, Fricker M, Pielaat AN, Heisterkamp S, Shaheen R, Salonen MS, Svensson B, Nguyen-the C, Ehling-Schulz. 2006. Emetic-producing strains of *Bacillus cereus* show distinct characteristics withing the *Bacillus cereus* group. *International Journal of Food Microbiology*. 109 (1-2): 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.01.022>.
- Carroll LM, Cheng RA, Wiedmann M, Kovac J. 2022. Keeping up with the *Bacillus cereus* group: taxonomy through the genomics era and beyond. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 62 (28): 7677-7702. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1916735>.
- Contzen M, Hailer M, Rau J. 2014. Isolation of *Bacillus cytotoxicus* from various commercial potato products. *International Journal of Food Microbiology*. 174: 19-22. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.024>.

- Dietrich R, Jessberger N, Ehling-Schulz M, Märklbauer, Granum PE. 2021. The Food Poisoning Toxins of *Bacillus cereus*. *Toxins*. 13: 98. <https://doi.org/10.3390/toxins13020098>.
- Doellinger J, Schneider A, Stark TD, Ehling-Schulz M, Lasch P. 2020. Evaluation of MALDI-ToF Mass Spectrometry for Rapid Detection of Cereulide from *Bacillus cereus* Cultures. *Frontiers in Microbiology*. 11: 511674. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.511674>.
- Ehling-Schulz M, Svensson B, Guinebretiere MH, Lindbäk T, Andersson M, Schulz A, Fricker M, Christiansson A, Granum PEK, Märklbauer E, Nguyen-The C, Salkinoja-Salonen M, Scherer S. 2005. Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains. *Microbiology (Reading)*. 151 (1): 183-197. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27607-0>.
- Gao R, Liu X, Xiong Z, Wang G, Ai L. 2024. Research progress on detection of foodborne pathogens: the more rapid and accurate answer to food safety. *Food Research International*. 193: 114767. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114767>.
- Ghosh SB, Bhattacharya K, Nayak S, Mukherjee P, Salaskar D, Kale SP. 2015. Identification of different species of *Bacillus* isolated from Nisargruna Biogas Plant by FTIR, UV-Vis, and NIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 148: 420-426. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.03.104>.
- Gong Y, Chen X, Wu W. 2024. Application of fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in sample preparation: material characterization and mechanism investigation. *Advances in Sample Preparation*. 11: 100122. <https://doi.org/10.1016/j.sampre.2024.100122>.
- Goodacre R, Shann B, Gilbert RJ, Timmins EM, McGovern AC, Alsberg BK, Kell DB, Logan NA. 2000. Detection of the dipicolinic acid biomarker in *Bacillus* spores using Curie-point analysis mass spectrometry and Fourier transform infrared spectroscopy. *Analytical Chemistry*. 72 (1): 119-127. <https://doi.org/10.1021/ac990661i>.
- Granum PE, Lund T. 1997. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Letters*. 157 (2): 223-228. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb12776.x>.
- Gupta MJ, Irudayaraj J, Debroy C. 2004. Spectroscopic quantification of bacteria using artificial neural networks. *Journal of Food Protection*. 67 (11): 2550-2554. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.11.2550>.
- Helm D, Labischinski H, Schallehn G, Naumann D. 1991. Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Journal of General Microbiology*. 137 (1): 69-79. <https://doi.org/10.1099/00221287-137-1-69>.
- Johles S, Kalbhenn EM, Heini N, Brodmann P, Gautsch S, Bağcıoğlu M, Contzen M, Stephan R, Ehling-Schulz M. 2018. Enterotoxin production of *Bacillus thuringiensis* isolates from biopesticides, foods, and outbreaks. *Frontiers in Microbiology*. 9: 1915. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01915>.
- Kassem A, Abbas L, Countinho O, Opera S, Najaf H, Kasperek D, Pokhrel K, Li X, Tiquia-Arashiro S. 2023. Application of Fourier Transform-Infrared spectroscopy in microbial cell biology and environmental microbiology: advances, challenges, and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*. 14: 1304081. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1304081>.
- Leoff C, Saile E, Sue D, Wilkins P, Quinn C, Carlson RW, Kannenberg EL. (2008). Cell Wall Carbohydrate Compositions of Strains from the *Bacillus cereus* Group of Species Correlate with Phylogenetic Relatedness. *Journal of Bacteriology*. 190 (1):112-121. <https://doi.org/10.1128/jb.01292-07>.
- Lin SF, Schraft H, Griffiths MW. 1998. Identification of *Bacillus cereus* by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). *Journal of Food Protection*. 61 (7): 921-923. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-61.7.921>.
- Lücking G, Stoeckel M, Atamer Z, Hinrichs J, Ehling-Schulz. 2013. Characterization of aerobic spore-forming bacteria associated with industrial dairy processing environments and product spoilage. *International Journal of Food Microbiology*. 166 (2): 270-279. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.004>.
- Mafe AN, Edo GI, Makia RS, Joshua OA, Akpogheli PO, Gaaz TS, Jikah AN, Yousif E, Isoje EF, Igbuku UA, Ahmed DS, Essaghah AEA, Umar H. 2024. A review on food spoilage mechanisms, food borne diseases and commercial aspects of food preservation and processing. *Food Chemistry Advances*. 5: 100852. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100852>.
- Martínez-Herrera RE, Alemán-Huerta ME, Rutiaga-Quinones OM, de Luna-Santillana EJ, Elufisan TO. 2023. A comprehensive view of *Bacillus cereus* as polyhydroxyalkanoate (PHA) producer: A promising alternative to Petroplastics. *Process Biochemistry*. 129: 281-292. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.03.032>.
- Mietke H, Beer W, Schleif J, Schabert G, Reissbrodt. 2010. Differentiation between probiotic and wild-type *Bacillus cereus* isolates by antibiotic susceptibility test and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). 140 (1): 57-60. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.009>.
- Movasaghi Z, Rehman S, Rehman I. 2008. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*. 43 (2): 134-179. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>.

- Naranjo M, Denayer S, Botteldoorn N, Delbrassine L, Veys J, Waegenaere J, Sirtaine N, Driesen RB, Sipido KR, Mahillon J, Dierick K. 2011. Sudden Death of a Young Adult Associated with *Bacillus cereus* Food Poisoning. *Journal of Clinical Microbiology*. 49 (12): 4379-4381. <https://doi.org/10.1128/JCM.05129-11>.
- Novais Á, Freitas AR, Rodrigues C, Peixe L. (2019) Fourier transform infrared spectroscopy: unlocking fundamentals and prospects for bacterial strain typing. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 38: 427-448. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3431-3>.
- Outurquin G, Obin O, Petit A, Weiss R, Léké A, Adjidé C, Mullié C. 2023. *Bacillus cereus* strains from donor human milk and hospital environment: uncovering a putative common origin using comparative analysis of toxin and infra-red spectroscopy profiles. *AIMS Microbiology*. 9 (3) 419-430. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2023022>.
- Pan JH, Liu RX, Tang HX. 2007. Surface reaction of *Bacillus cereus* biomass and its biosorption for lead and copper ions. *Journal of Environmental Sciences*. 19 (4) 403-308. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(07\)60067-9](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(07)60067-9).
- Pasieczna-Patkowska S, Cichy M, Flieger J. 2025. Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in Characterization of Green Synthesized Nanoparticles. *Molecules*. 30 (3): 684. <https://doi.org/10.3390/molecules30030684>.
- Pasieczna-Patkowska S, Madej J. 2018. Comparison of photoacoustic, diffuse reflectance, attenuated total reflectance and transmission infrared spectroscopy for the study of biochars. *Polish Journal of Chemical Technology*. 20 (4) 75-83. <https://doi.org/10.2478/pjct-2018-0057>.
- Radmehr B, Zaferanloo B, Tran T, Beale DJ, Palombo EA. 2020. Prevalence and Characteristics of *Bacillus cereus* Group Isolated from Raw and Pasteurised Milk. *Current Microbiology*. 77 (10): 3065-3075. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02129-6>.
- Ramarao N, Tran SL, Marin M, Vidic J. 2020. Advanced Methods for Detection of *Bacillus cereus* and Its Pathogenic Factors. *Sensors (Basel)*. 20 (9): 2667. <https://doi.org/10.3390/s20092667>.
- Rohman A, Ghazali MAB, Windarsih A, Irnawati, Riyanto S, Yusof FM, Mustafa S. 2020. Comprehensive review on application of FTIR spectroscopy coupled with chemometrics for authentication analysis of fats and oils in the food products. *Molecules*. 25 (22): 5485. <https://doi.org/10.3390/molecules25225485>.
- Soni A, Dixit Y, Brightwell G, Reis MM. 2024. Hyperspectral imaging and deep learning for detection and quantification of germination in *Bacillus cereus* spores. *International Journal of Food Science and Technology*. 59 (5): 3505-3513. <https://doi.org/10.1111/ijfs.17038>.
- Tallent SM, Knolhoff A, Rhodehamel EJ, Harmon SM, Bennett RW. 2020. Bacteriological Analytical Manual Chapter 14: *Bacillus cereus*. Diakses pada: <https://www.fda.gov/media/183341/download?attachment>.
- Qi W, Tian Y, Lu D, Chen B. 2022. Research Progress of Applying Infrared Spectroscopy Technology for Detection of Toxic and Harmful Substances in Food. *Foods*. 11: 930. <https://doi.org/10.3390/foods11070930>.
- Quintanilla-Villanueva GE, Sánchez-Álvarez A, Núñez-Salas RE, Rodríguez-Delgado MM, Luna-Moreno D, Villareal-Chiu JF. 2024. Recent Advances in Monitoring Microbial Toxins in Food Samples by HPLC-Based Techniques: A Review. *Analytica*. 5: 512-537. <https://doi.org/10.3390/analytica5040035>.
- Vidic J, Chaix C, Manzano M, Heyndrickx M. 2020. Food Sensing: Detection of *Bacillus cereus* Spores in Dairy Products. *Biosensors*. 10 (3): 15. <https://doi.org/10.3390/bios10030015>.
- Whittaker P, Mossoba MM, Al-Khaldi S, Fry FS, Dunkel VC, Tall BD, Yuraweez MP. 2003. Identification of foodborne bacteria by infrared spectroscopy using cellular fatty acid methyl esters. *Journal of Microbiological Methods*. 55 (3): 709-716. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.07.005>.
- [WHO] World Health Organization. 2022. Global Strategy for Food Safety 2022-2030. Diakses pada: <https://iris.who.int/handle/10665/364638>.
- Yang H, Shi H, Feng B, Wang L, Chen L, Alvarez-Ordóñez A, Zhang L, Shen H, Zhu J, Yang S, Ding C, Prietod M, Yang F, Yu S. (2023). Protocol for bacterial typing using Fourier transform infrared spectroscopy. *STAR Protocols*. 4: 102223. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2023.102223>.