

## **Bakteriosin Asal *Streptococcus Bovis* 9A sebagai Biopreservatif pada Daging Sapi Ditinjau dari Uji Eber**

*(EFFECTS OF BACTERIOSIN ORIGINATED FROM STREPTOCOCCUS BOVIS 9A AS BIOPRESERVATIVE ON BEEF REVIEWED BY EBER TESTS)*

**Juliana Franciska<sup>1</sup>, I Wayan Suardana<sup>2</sup>, I Nyoman Suarsana<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Profesi Dokter Hewan,  
<sup>2</sup>Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner  
<sup>3</sup>Laboratorium Biokimia Veteriner  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana  
Jl.P.B. Sudirman Denpasar Bali, Telp: 0361-223791  
e-mail: ulieffrancis@gmail.com

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perendaman bakteriosin asal *Streptococcus bovis* isolat 9A sebagai biopreservatif pada daging sapi ditinjau dari uji Eber. Penelitian dimulai dari persiapan kultur isolat 9A dan dilanjutkan dengan produksi bakteriosin kasar, persiapan sampel dan aplikasi bakteriosin sebagai biopreservatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman daging dalam bakteriosin 5 menit, 10 menit dan tanpa bakteriosin berpengaruh terhadap kualitas daging berdasarkan uji Eber. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa perendaman daging dalam bakteriosin asal *Streptococcus bovis* isolat 9A mampu memperpanjang masa simpan daging sapi.

Kata kunci: bakteriosin; daging sapi; uji Eber

### **ABSTRACT**

This study aims to determine the effect of bacteriocin immersion originated from *Streptococcus bovis* isolate 9A as biopreservatif in beef in terms of Eber test. The study started from the preparation of culture of isolate 9A and continued with the production of rough bacteriocin, sample preparation and bacteriocin application as biopreservative. The results showed that soaking of meat in bacteriocin 5 minutes, 10 minutes and without bacteriocin that have a effect of based beef quality on Eber test. In this study it can be concluded that the immersion of meat by bacteriocin originated from *Streptococcus bovis* isolate 9A can be used as a biopreservatif..

Keywords: bacteriocin; beef; Eber test

### **PENDAHULUAN**

Daging dalam keadaan segar sangat mudah mengalami kerusakan sebagai akibat adanya reaksi kimiawi, enzimatik, dan aktivitas mikroba. Pada umumnya kerusakan yang disebabkan oleh bakteri mendominasi peristiwa kerusakan lainnya. Pertumbuhan mikroorganisme pada daging dapat mengakibatkan berbagai perubahan fisik maupun kimiawi

yang tidak diharapkan, sehingga daging tersebut tidak layak konsumsi (Buckle *et al.*, 1987). Peningkatan pH, perubahan bau, tekstur, cita rasa, dan pelepasan NH<sub>3</sub> merupakan karakteristik terjadinya dekomposisi daging oleh mikroorganisme (Thornton, 1957).

Berbagai metode pengawetan telah dilakukan untuk mempertahankan bahan pangan asal hewan terutama pada daging, hal tersebut tentunya memiliki dampak positif berupa panjangnya masa simpan, dan juga dapat memberikan dampak negatif digunakannya bahan-bahan kimia seperti formalin, nitrit, sulfat, sodium, diasetat dan antibiotik sebagai bahan pengawetan yang dalam penggunaannya masih dipersoalkan tingkat keamanannya untuk dikonsumsi oleh masyarakat. Ada beberapa bahan pengawet yang memiliki sifat anti mikroba dan telah dikonsumsi oleh masyarakat dalam jangka waktu yang lama serta tanpa ada efek yang merugikan. Senyawa tersebut merupakan komponen biologis yang disebut agen biopreservatif (Frazier dan Westhoff, 1998).

Bakteriosin termasuk agen biopreservatif yang mampu mencegah terjadinya pembusukan, memperpanjang waktu penyimpanan bahan pangan asal hewan dan menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk. Bakteriosin adalah substansi protein yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Bakteriosin merupakan biopreservatif yang aman (Ray, 1992), karena dapat didegradasi oleh enzim-enzim proteolitik di lambung (De Vuyst dan Leroy, 2007).

Bakteriosin secara alami dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL). BAL termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin, sehingga disebut sebagai *food grade microorganism* atau dikenal sebagai *Generally Recognized As Safe (GRAS)* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan (Kusmiati dan Amarila, 2002).

Menurut Widyadnyana (2015) pada uji aktivitas antimikroba menggunakan media *Mueller Hinton Agar*, BAL isolat 9A mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dari *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat berkisar antara 0,77 – 1,26 cm. Namun, tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* O157 : H7. Pada uji tersebut, dapat diketahui bahwa BAL isolat 9A mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen. Sehingga dapat dimanfaatkan sebagai biopreservasi untuk makanan.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perlu adanya pengujian terhadap efektivitas bakteriosin dari *Streptococcus bovis* isolat 9A sebagai biopreservatif pada daging sapi dengan parameter uji Eber.

## METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan merupakan daging sapi potongan karkas paha atas (*rump*) sebanyak 1 kg yang diperoleh dari Rumah Pemotongan Hewan Pesanggaran dan isolat 9A asal BAL hasil isolasi kolon Sapi Bali yang disimpan dalam gliserol 30% pada suhu penyimpanan -20°C.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok pola faktorial 3 x 6 yaitu dengan 3 faktor perlakuan yaitu perlakuan I daging tanpa dicelupkan ke dalam bakteriosin sebagai kontrol, perlakuan II adalah daging yang dicelupkan ke dalam bakteriosin selama 5 menit dan perlakuan III adalah daging yang dicelupkan ke dalam bakteriosin selama 10 menit dengan 6 faktor jangka waktu penyimpanan H0 (hari ke -0), H2 (hari ke-2), H4 (hari ke-4), H6 (hari ke-6), H8 (hari ke-8), H10 (hari ke-10) pada suhu 5°C. Sehingga penelitian ini menggunakan  $3 \times 6 \times 3 = 54$  unit percobaan.

BAL isolat 9A yang telah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam, disentrifugasi dengan kecepatan 7.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi, kemudian dipresipitasi dengan cara melakukan penambahan ammonium sulfat. Penambahan ammonium sulfat pada supernatan dilakukan secara perlahan-lahan sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* sampai kejenuhan 70 %. Selanjutnya supernatan disentrifugasi lagi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Endapan yang didapat dari supernatan kemudian ditambahkan dengan larutan NaCl fisiologis pada perbandingan 1:1 (v/v) (Sudirman *et al.*, 1993).

Daging sapi dipotong secara aseptis, berat potongan daging masing-masing 5 gr dengan ukuran 5 cm x 5 cm x 2 cm, dan dibagi menjadi 30 bungkus dengan tujuan untuk pembagian perlakuan dan waktu pengamatan.

Kemudian seluruh sampel direndam larutan NaCl fisiologis untuk menyelaraskan cemaran awal mikroba. Selanjutnya daging dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu: kelompok I (sebagai kontrol) daging tidak diberikan perlakuan dengan menggunakan bakteriosin isolat 9A, kelompok II daging diberikan perlakuan dengan perendaman dalam bakteriosin isolat 9A selama 5 menit, serta kelompok III daging direndam dalam bakteriosin

isolat 9A dalam waktu 10 menit. Setelah diberi perlakuan, semua daging dibungkus dalam plastik klip dan selanjutnya disimpan dalam lemari es dengan suhu 5°C. Setiap perlakuan terdiri dari 3 kali ulangan, yang terdiri dari 3 sampel. Dengan demikian diperlukan 54 sampel. Pengamatan dilakukan pada hari ke-0, ke-2, ke-4, ke-6, ke-8, dan ke-10.

Parameter yang diamati meliputi pada uji kebusukan dengan uji Eber dan uji bau pada daging. Reagen Eber terdiri atas 1 bagian HCl pekat, 3 bagian alkohol 96%, dan 1 bagian eter, masukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya tusukkan daging pada tusuk gigi yang sudah disterilkan dan masukkan tusukan daging tersebut dalam tabung reaksi yang sudah dituangi reagen Eber. Kemudian tutup atas tabung dengan menancapkan gabus steril pada bagian atas/pangkal tusuk gigi sehingga mampu menutup seluruh bagian atas tabung agar tidak terjadi penguapan reagen Eber. Selanjutnya perhatikan gas NH<sub>4</sub>Cl pada permukaan reagen dengan mengamati terbentuk atau tidaknya uap atau awan putih di sekitar daging yang dapat terlihat pada dinding tabung (Dengen, 2015).

Hasil dari uji eber dinyatakan dengan negatif apabila tidak ada awan putih yang terbentuk disekitar daging, positif 1 (+) = terbentuk awan putih sedikit (setelah 10 menit), positif 2 (++) = terbentuk awan putih cukup banyak (dalam waktu 5-10 menit), serta positif 3 (+++) = terbentuk awan putih yang banyak (dalam waktu < 5 menit).

Data uji pembentukan gas NH<sub>4</sub>Cl (uji Eber) yang diperoleh terlebih dahulu dikonversi ke angka, 0 untuk negatif (-) dan angka 1 untuk positif (+), angka 2 untuk (++), dan angka 3 untuk (+++). Data hasil penilaian untuk uji hedonik maupun pengujian mutu hedonik dicari nilai rata-ratanya. Selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam dan apabila terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan. Untuk mencari bentuk hubungan antara perlakuan bakteriosin dan jangka waktu penyimpanan terhadap uji pembentukan NH<sub>4</sub>Cl. Data diuji dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Duncan, selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara lama waktu perendaman dengan lama penyimpanan terhadap kualitas daging dilanjutkan dengan analisis korelasi regresi.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Uji Eber merupakan salah satu metode untuk mengetahui produksi NH<sub>3</sub> sebagai akibat dari aktivitas biokimia mikroorganisme dalam daging. Pelepasan NH<sub>3</sub> dapat dilihat dengan reaksi Uji Eber yang ditandai dengan bentukan awan putih.

Hasil Uji Eber pada daging sapi dengan perlakuan perendaman dalam bakteriosin dengan jangka waktu penyimpanan, disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Uji Eber Daging sapi

	Ulangan	Waktu Pengamatan					
		0	2	4	6	8	10
Kontrol	1	-	-	-	++	+++	+++
	2	-	-	-	++	++	+++
	3	-	-	-	++	++	+++
Bakteriosin 5 menit	1	-	-	-	+	++	++
	2	-	-	-	+	++	++
	3	-	-	-	+	++	++

**Keterangan:** Negatif (-): Tidak ada awan putih di sekitar daging, Positif 1 (+): Terbentuk awan putih sedikit (terbentuk setelah 10 menit), Positif 2 (++) : Terbentuk awan putih cukup banyak (terbentuk 5-10 menit), Positif 3 (+++): Terbentuk awan putih yang banyak (terbentuk < 5 menit).

Pada Tabel 1 secara deskriptif terlihat bahwa antara daging sapi kontrol tanpa perendaman bakteriosin, dan yang direndam dalam bakteriosin selama 5 menit dan 10 menit menunjukkan adanya pelepasan NH<sub>3</sub> dari hari ke-6 sampai dengan hari ke-10, namun pada daging dengan perendaman bakteriosin, pembentukan awan putih tidak sebanyak jika dibandingkan dengan kontrol.

Pengujian dilanjutkan dengan terlebih dahulu kedalam angka 0 untuk hasil (-), 1 untuk (+), 2 untuk (++) , dan 3 untuk (+++), dan ditransformasikan kedalam 0,5 dengan uji Sidik Ragam

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perendaman dalam bakteriosin dan waktu penyimpanan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap uji Eber. Hasil sidik ragam juga menunjukkan terjadinya interaksi yang nyata antara perlakuan perendaman bakteriosin dan waktu penyimpanan terhadap uji Eber.

### **Pengaruh Perlakuan Perendaman dalam Bakteriosin terhadap Uji Eber**

Pengujian lebih lanjut dengan uji Jarak Berganda Duncan pengaruh perendaman dalam bakteriosin terhadap uji Eber pada daging sapi seperti tersaji pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Uji Jarak Berganda Duncan Perlakuan Perendaman Daging Sapi ke dalam Bakteriosin Terhadap Uji Eber

Bakteriosin	Rata-rata	Notasi
B0	1.22	a
B5	0.83	b
B10	0.33	c

Hasil uji Jarak Berganda Duncan menunjukkan bahwa antara perlakuan tanpa perendaman dalam bakteriosin dan perendaman selama 5 menit menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap uji Eber, dan pada perlakuan perendaman bakteriosin selama 5 menit dengan perlakuan perendaman selama 10 menit juga menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap uji Eber.

### **Pengaruh Waktu Penyimpanan terhadap Uji Eber**

Hasil uji lanjutan pengaruh waktu penyimpanan terhadap uji Eber pada daging sapi tersaji pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Uji Jarak Berganda Duncan Waktu Penyimpanan Daging Sapi terhadap Uji Eber

Penyimpanan	Rata-rata	Notasi
H0	0	a
H2	0	a
H4	0	a
H6	1.00	b
H8	1.78	c
H10	2.00	d

Hasil uji Jarak Berganda Duncan menunjukkan bahwa antara H0, H2 dan H4 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P > 0.05$ ), namun pada H0, H2 dan H4 menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) dengan H6, H8 dan H10 terhadap pembentukan gas  $NH_4Cl$  pada uji Eber. Terbukti dengan awan putih yang terbentuk dari H0 sampai H4 sangat sedikit yang dibuktikan dengan hampir tidak terbentuknya gas  $NH_4Cl$  pada dinding tabung, sedangkan mulai pada H6 pembentukan gas  $NH_4Cl$  mulai terlihat jelas dan semakin meningkat pada H10

### **Interaksi antara Perendaman dalam Bakteriosin dan Waktu Penyimpanan terhadap Uji Eber**

Uji lanjutan antar perlakuan perendaman dalam bakteriosin dan jangka waktu penyimpanan terhadap uji Eber tersaji pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Uji Jarak Berganda Duncan Interaksi Perendaman dalam Bakteriosin pada Perlakuan yang Sama (H pada B yang sama)

Perendaman dalam Bakteriosi	Rata-Rata	Notasi
B0	H0	0.0
	H2	0.0
	H4	0.0
	H6	2.0
	H8	2.3
	H10	3.0
B5	H0	0.0
	H2	0.0
	H4	0.0
	H6	1.0
	H8	2.0
	H10	2.0
B10	H0	0.0
	H2	0.0
	H4	0.0
	H6	0.0
	H8	1.0
	H10	1.0

**Keterangan:** huruf yang berbeda kearah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ), sebaliknya huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ).

Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa daging sapi yang diberikan perlakuan perendaman dalam bakteriosin B0, B5, dan B10 untuk H0 sampai dengan H4 menunjukkan perbedaan yang tidak nyata terhadap pembentukan gas  $NH_4Cl$ . Begitupun pada perlakuan B0 dan B5 pada H6 menunjukkan perbedaan yang tidak nyata. Berbeda halnya dengan perlakuan B0, B5 dan B10 pada H8 dan H10 menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap pembentukan gas  $NH_4Cl$ .

Hal tersebut terkait dengan perkembangan jumlah mikroorganisme, dimana pada H0 sampai dengan H4 terdapat mikroorganisme namun dalam jumlah yang sedikit, dan pada H6 mikroorganisme mulai memasuki fase awal metabolisme sampai dengan H10. Sehingga dari H6 sampai dengan H10 menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Sebab semakin lama daging disimpan, pertumbuhan bakteri akan semakin banyak yang ditandai dengan bentukan gas  $NH_4Cl$  pada H8 dan H10 yang mengalami peningkatan terutama pada daging sapi kontrol.

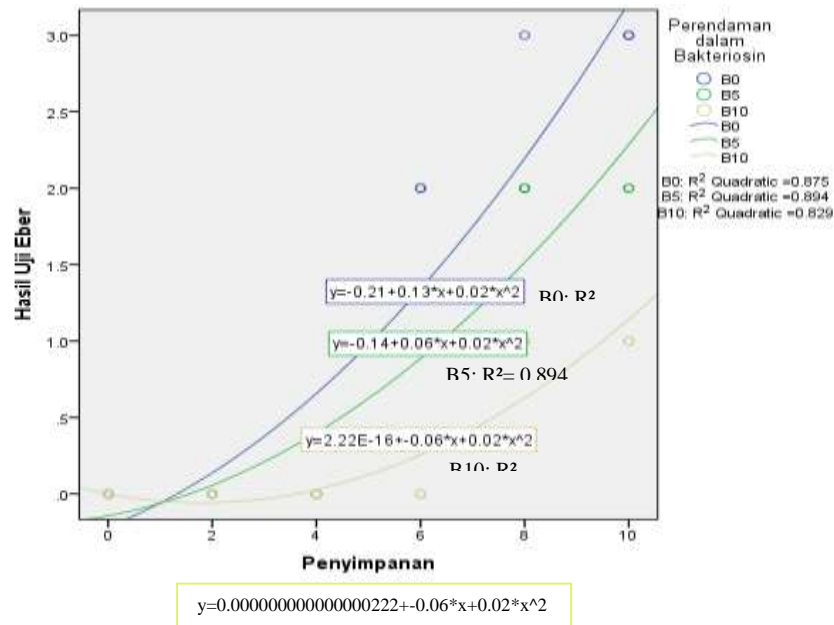
Begitupun pada perendaman 10 menit, pada H0 sampai dengan H6 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P > 0,05$ ). Pada H0, H2, H4 dan H6 menunjukkan hasil berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan H8 dan H10.

Pada daging sapi dengan perendaman bakteriosin 10 menit menunjukkan bahwa pada H0 sampai dengan H6 tidak terlihat bentukan awan putih hal ini dikarenakan mikroorganisme pada daging masih pada fase adaptasi sehingga belum terjadi metabolisme pada mikroorganisme tersebut sehingga tidak dapat menghasilkan gas  $\text{NH}_4\text{Cl}$  yang merupakan salah satu hasil metabolisme dari mikroorganisme tersebut, berbeda pada H8 dan H10 yang menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dimana mulai bentukan gas  $\text{NH}_4\text{Cl}$  yang terlihat pada dinding tabung dan dalam jumlah yang sedikit.

Hal tersebut dapat dihubungkan dengan pertumbuhan mikroorganisme, bahwa semakin lama penyimpanan maka pertumbuhan mikroorganisme juga semakin meningkat (Soeparno, 1994). Dengan bertambah banyaknya mikroorganisme maka asam amino yang dirombak oleh deaminase dengan produksi hydrogen, karbondioksida dan amonia juga semakin meningkat (Lawrie, 2003). Pada daging sapi yang memperoleh perlakuan perendaman dalam bakteriosin, jumlah mikroorganisme akan ditekan sehingga produksi ammonia sebagai hasil perombakan asam amino menjadi semakin berkurang. Sehingga dengan semakin sedikitnya gas  $\text{NH}_3$  yang terbentuk, maka gas  $\text{NH}_4\text{Cl}$  yang berbentuk awan putih juga akan semakin berkurang (Wija, 2006).

Persamaan garis regresi hubungan antara lama perendaman bakteriosin dengan jangka waktu penyimpanan menurut hasil uji Eber adalah pada Bakteriosin 0 menit (kontrol)  $Y = 0,21 + 0,13x + 0,02x^2$  dengan koefisien korelasi  $R^2 = 0,875$ . Bakteriosin 5 menit  $Y = 0,14 + 0,06x + 0,02x^2$  dengan koefisien korelasi  $R^2 = 0,894$  dan bakteriosin 10 menit  $Y = 2,22E-16 + -0,06x + 0,02x^2$  dengan koefisien korelasi  $R^2 = 0,829$  (Gambar 1).





**Gambar 1.** Kurva kuadratik hasil uji Eber berdasarkan lama perendaman Bakteriosin terhadap lama penyimpanan

Persamaan garis regresi pada Grafik 1 menunjukkan bahwa memiliki kolerasi yang kuat. Hal ini dibuktikan dengan produksi  $\text{NH}_4\text{Cl}$  oleh mikroorganisme pada daging sapi yang direndam dengan bakteriosin selama 10 menit lebih rendah daripada yang direndam selama 5 menit dan produksi  $\text{NH}_4\text{Cl}$  dari sampel daging yang direndam selama 5 menit dan 10 menit lebih rendah bila dibandingkan dengan daging sapi kontrol (tanpa perendaman bakteriosin). Hasil ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka produksi  $\text{NH}_4\text{Cl}$  akan semakin meningkat, namun peningkatan lebih lambat pada perlakuan perendaman selama 5 menit dan lebih lambat lagi pada perendaman 10 menit. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan maka pertumbuhan mikroorganisme juga semakin meningkat (Soeparno, 1994). Dan semakin lama waktu perendaman maka semakin lama daya simpan daging.

### SIMPULAN

Bakteriosin *Streptococcus bovis* dapat digunakan sebagai biopreservatif pada daging sapi. Lama perendaman dengan bakteriosin *Streptococcus bovis* 9A baik 5 atau 10 menit lebih mampu memperpanjang masa simpan daging sapi ditinjau dari uji Eber. Terdapat interaksi antara lama perendaman dalam bakteriosin dengan jangka waktu penyimpanan terhadap hasil uji Eber.

### SARAN

Pemberian bakteriosin dapat diterapkan dengan melihat kelebihan-kelebihan yang dimiliki bakteriosin. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode lain yang efektif untuk mengaplikasikan bakteriosin sebagai biopreservatif pada daging.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana yang telah memberikan izin serta sarana dan prasarana selama penulis melakukan penelitian sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

### DAFTAR PUSTAKA

- Buckle KA, Edward RA, Flier GH, Wooton M. 1987. *Ilmu Pangan*. Cetakan ke-2. Terjemahan Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta: Universitas Indonesia.
- De Vuyst L, Leroy F. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 13(4): 194-199.
- Frazier WC, Westthoof DC. 1998. *Food Microbiology*. New York. chap.9. In ray, B. and M. Daeschel, eds. Food Biopreservatives of Microbial Origins. CRC Pr.
- Kusmiati, Amarila M. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari *Leuconostoc mesenteroides* PBac1 pada Berbagai Media. *Makara Journal* 16(1): 1-7.
- Lawrie RA. 2003. *Ilmu Daging. Edisi V Cetakan ke-1*. Terjemahan Aminuddin Parakkasi. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Dengen PMR. 2015. Perbandingan Uji Pembusukan dengan Menggunakan Metode Uji Postma, Uji Eber, Uji H<sub>2</sub>S dan Pengujian Mikroorganisme Pada Daging Babi di Pasar Tradisional Sentral Makassar. (Skripsi). Makassar: Universitas Sultan Hassanudin.
- Ray P. 1992. Bacteriocins of lactic acid bacteria in combination have greater antibacterial activity. *Journal of Food Protection* 56(3): 252-255.
- Soeparno. 1994. *Ilmu dan Teknologi Daging*. Cetakan ke-2. Yogyakarta: Gajah Mada Universitas Press.
- Sudirman IF, Mathiau, Michael M, Lefebvre G. 1993. Detection and Properties of Curvaticin 13, a Bacteriocin Like Substance Produced by *Lactobacillus curvatus* SB 13. *Current Microbiol*. 27: 35-40.
- Thornton SF. 1957. Food Hygiene. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 5.
- Widyadnyana DGA. 2015. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali Sebagai Probiotik melalui Analisis Gen 16S rRNA. *Jurnal Sain Veteriner* 33(2).