

Pengaruh Bakteriosin Produksi Bakteri Asam Laktat Isolat Indonesia terhadap Jumlah Bakteri dalam Susu Pasteurisasi.

(The effect of bacteriocin produced by Indonesia Isolate of lactic acid bacteria toward total bacteria in pasteurized milk)

Nurliana¹, Idwan Sudirman², Mirnawati Sudarwanto², dan Raden Roso Soejoedono²

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,

ABSTRACT The aim of this research was to study the ability of bacteriocin (amylocin) produced by Indonesian isolate of Lactic Acid Bacteria (LAB) (*Lactobacillus amylovorus* US 121) and its combination with nisin in pasteurized milk. The total bacteria was measured by plate count method. The antimicrobial activity of amylosin at 64 AU/ml had the same activity with nisin at 625 AU/ml and its combination between amylosin and nisin at 32 AU/ml and 312,5 AU/ml respectively against

psychrotrophic, thermotolerant bacteria and *L. monocytogenes* in pasteurized milk. However, combination of amylosin and nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml) able to reduce *S. aureus* in pasteurized milk. Amylosin at 64 AU/ml kept the shelf life of pasteurized milk longer until 12 days at 10°C. The addition of amylosin (the precipitate resulted by ammonium sulfate precipitation at 70% w/v) changed the color of pasteurized milk be brownish white.

Key words: bacteriocin, amylosin, pasteurized milk

2009 Agripet : Vol (9) No. 1: 50-56

PENDAHULUAN

Susu merupakan bahan makanan yang bernilai gizi tinggi, dimana kandungan dan komposisi gizinya hampir sempurna. Selain itu juga susu merupakan salah satu sumber protein hewani yang paling baik dibandingkan dengan bahan makanan lain. Susu sangat dibutuhkan terutama bagi bayi dan anak hewan yang baru lahir, tetapi susu juga mempunyai kelemahan karena merupakan bahan makanan yang mudah rusak (*perishable food*). Kandungan bahan-bahan di dalamnya sangat disukai mikroorganisme terutama oleh mikroorganisme perusak atau pembusuk (Sudarwanto, 1996). Bahkan susu dapat bertindak sebagai sumber penularan penyakit yang membahayakan kesehatan manusia.

Salah satu cara penanganan dalam usaha mengawetkan susu adalah dengan perlakuan pemanasan sedang atau pasteurisasi (Sofos, 1993). Menurut Hobbs dan Roberts (1997) tujuan dari pasteurisasi adalah untuk membunuh bakteri patogen dan bakteri non patogen (pembusuk atau perusak), sekaligus untuk meningkatkan mutu susu. Susu

pasteurisasi yang dipanaskan pada suhu 71-75°C selama 15 detik hanya membunuh 95% bakteri yang ada dalam susu, sehingga berpengaruh terhadap mutu susu pasteurisasi bila suhu penyimpanannya tidak sesuai (Fox dan Cameron, 1989).

Penggunaan bakteri asam laktat sebagai bahan pengawet (biopreservatif) sudah dikenal sejak lama, terutama dalam pengolahan susu. Efek dari pengawetan dengan biopreservatif disebabkan oleh salah satu metabolit yang dihasilkan oleh bakteri tersebut, yaitu bakteriosin (Winkowski dan Montville, 1992; Barefoot dan Nettles, 1993). Bakteriosin mempunyai efek bakterisida atau bakteriostatik terhadap bakteri yang sensitif baik yang patogen maupun bakteri perusak atau pembusuk (Liao *et al.*, 1994; Schillinger *et al.*, 1995). Nisin adalah bakteriosin yang diakui penggunaannya dalam bahan makanan oleh Food and Drugs Administration (FDA) Amerika Serikat, Food and Agriculture Organization (FAO) dan World Health Organization (WHO) (Holzapfel *et al.*, 1995). Penambahan nisin dalam susu pasteurisasi akan mempunyai daya simpan selama 6 hari pada suhu 15°C dan 2 hari pada suhu 20°C

Corresponding author: nunayafiq@yahoo.com

(Ray, 1992). Menggabungkan bakteriosin akan lebih menguntungkan karena sifat anti bakterialnya lebih besar dibandingkan hanya dengan menggunakan satu macam bakteriosin saja (Hanlin *et al.*, 1993).

Akhir-akhir ini terjadi peningkatan kebutuhan konsumen akan susu yang meminimalkan penambahan bahan-bahan pengawet kimia. Oleh sebab itu untuk memenuhi keinginan konsumen dan untuk mencegah kerusakan susu pasteurisasi, maka perlu dilakukan cara pengawetan yang akan meningkatkan mutu dan keamanan susu pasteurisasi, yaitu dengan menambahkan biopreservatif (bakteriosin) produksi bakteri asam laktat isolat asli Indonesia dan gabungannya.

MATERI DAN METODE

Susu Pasteurisasi

Susu segar berasal dari Mamalia Dairy Farm, Ciawi Bogor. Dipasteurisasi dengan alat pasteurisasi pada suhu 72°C selama 15 detik dan pada suhu 100°C selama 1 detik. Sebelum perlakuan, sampel susu pasteurisasi diuji terhadap kesempurnaan pasteurisasi dengan menggunakan uji Storch. Pemeriksaan mutu susu pasteurisasi berdasarkan uji alkohol dan uji organoleptik (bau, warna, rasa dan kekentalan) dilakukan pada setiap pengamatan.

Nisin

Nisin dalam kemasan 25 g mempunyai aktivitas 2,5%. Berdasarkan pendapat Ray (1992b) bahwa dalam satu gram nisin murni mempunyai aktivitas 10^6 IU. Oleh sebab itu dalam 1 g nisin 2,5% mempunyai aktivitas 25000 IU. Untuk memperoleh aktivitas 250 IU, maka 10 mg nisin dilarutkan dalam 1 ml aqua steril.

Amylosin dari BAL Isolat Indonesia (*Lb. amylovorus* US 121)

Supernatan bebas sel diperoleh dengan cara menginokulasi kultur BAL isolat asli Indonesia (*Lb. amylovorus* US 121) dalam MRS broth modifikasi (2,8% MRS broth, 0,4% Yeast extract dan 0,2% Twin 80). Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Selanjutnya disentrifus pada 4000 rpm selama 40 menit. Supernatan bebas sel yang diperoleh

dinetralsir dengan NaOH 1H sehingga pH berkisar 6,5-7,2, lalu disterilisasi dengan pemanasan 100°C selama 10 menit. Amylosin yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan hasil presipitasi ammonium sulfat 70%. Metode presipitasi dengan ammonium sulfat yang digunakan berdasarkan metode yang dikemukakan oleh Harris (1989); Sudirman *et al.* (1993). Presipitat amylosin diperoleh dengan cara menambahkan ammonium sulfat sampai 70% ke dalam supernatan bebas sel secara perlahan-lahan sambil diaduk, lalu disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C selama 1 jam, kemudian disentrifus pada 3000 rpm selama 4 menit. Endapan dilarutkan dengan PBS (pH 7,2) pada perbandingan 1:1 (v/v).

Pengujian Penambahan Bakteriosin dan Gabungan Bakteriosin Terhadap Jumlah Bakteri yang ada dalam Susu Pasteurisasi

Sampel susu pasteurisasi dibagi menjadi 20 subsampel, masing-masing sebanyak 20 ml. Subsampel dibagi secara acak menjadi empat perlakuan, yaitu: (1) kontrol tanpa perlakuan, (2) penambahan bakteriosin amylosin (64 AU/ml susu), (3) penambahan nisin (625 AU/ml susu), dan (4) penambahan gabungan amylosin dan nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml). Semua subsampel disimpan pada suhu 10°C, kecuali pada hari ke 0. Pengamatan dilakukan pada hari ke 0, 3, 6, 9, dan 12.

Pengujian Penambahan Bakteriosin dan Gabungan Bakteriosin terhadap Jumlah *L. monocytogenes* dan *S. aureus* dalam Susu Pasteurisasi

Sampel susu ultra-pasteurisasi dibagi menjadi 48 subsampel, masing-masing sebanyak 20 ml. Subsampel dibagi secara acak menjadi empat perlakuan, yaitu: (1) kontrol tanpa perlakuan, (2) penambahan amylosin (64 AU/ml susu), (3) penambahan amylosin (32 AU/ml susu), (4) penambahan amylosin dan nisin (32 AU/ml + 312,3 AU/ml). Sebelum perlakuan subsampel dibagi menjadi dua bagian, 24 subsampel diinokulasi dengan biakan semalam *L. monocytogenes* kira-kira 10^3 /ml susu, dan 24 subsampel yang lain diinokulasi dengan *S. aureus* dengan konsentrasi 8×10^3 /ml susu. Kemudian semua

subsampel disimpan pada suhu 10°C, kecuali pengamatan pada jam ke 0. Lalu diamati pada jam ke 0, 24, 48, 72, 96, dan 120.

Pengamatan terhadap Jumlah Bakteri yang ada dalam Susu Pasteurisasi

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah bakteri yang bersifat termotoleran, psikrotropik, *L. monocytogenes* dan *S. aureus*. Penghitungan jumlah bakteri berdasarkan metode hitungan cawan (Swanson *et al.*, 1992). Media agar yang digunakan untuk mengetahui jumlah bakteri termotoleran dan psikrotropik adalah PCA. Suhu inkubasi untuk bakteri termotoleran adalah 37-38°C selama 24-48 jam. Bakteri psikrotropik diinkubasi pada suhu 10°C selama 7-10 hari. Media untuk *L. monocytogenes* menggunakan media agar TSA, sedangkan untuk *S. aureus* menggunakan media agar VJA. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian dilakukan secara duplo untuk masing-masing pengenceran. Jumlah bakteri dihitung berdasarkan cfu/ml.

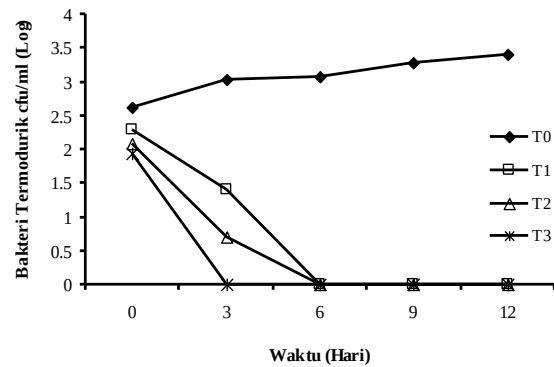
Analisis Statistik

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis sidik ragam, sebelumnya ditransformasikan terlebih dahulu dengan log (Mustafa, 1990). Jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji wilayah berganda-Duncan untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

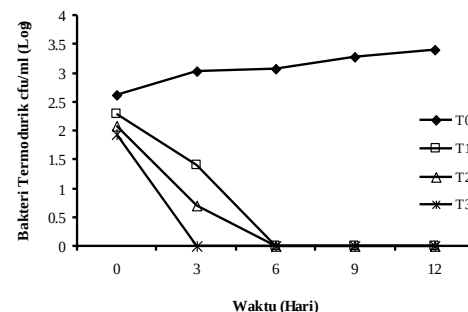
Pengaruh Penambahan Amylosin, Nisin dan Gabungan Amylosin dengan Nisin terhadap Jumlah Bakteri yang ada dalam Susu Pasteurisasi

Pengamatan terhadap jumlah bakteri yang bersifat psikrotropik dengan penambahan amylosin, nisin dan gabungannya dengan nisin dalam susu pasteurisasi dapat membunuh bakteri tersebut sampai 100% jika dibandingkan dengan kontrol sejak pada pengamatan pada hari ke 0 (Gambar 1). Pengamatan pada kontrol memperlihatkan jumlah bakteri psikrotropik meningkat sampai 78% dari jumlah awal log 1,98 pada hari ke 12.



Gambar 1. Kurva Jumlah Bakteri Psikrotropik dalam Susu Pasteurisasi dengan Perlakuan: Kontrol (T0), Amylosin 64 AU/ml Susu (T1), Nisin 625 AU/ml susu (T2), Gabungan (Amylosin 32 AU/ml + Nisin 312,5 AU/ml Susu) (T3)

Bila dilihat dari data jumlah bakteri termotoleran pada penambahan amylosin dengan nisin mampu membunuh bakteri tersebut sampai 100% setelah pengamatan hari ke 3, sedangkan pada penambahan amylosin atau nisin saja hanya mampu membunuh bakteri tersebut sampai 100% setelah pengamatan hari ke 6. Kurva jumlah bakteri termotoleran dapat dilihat pada Gambar 2.



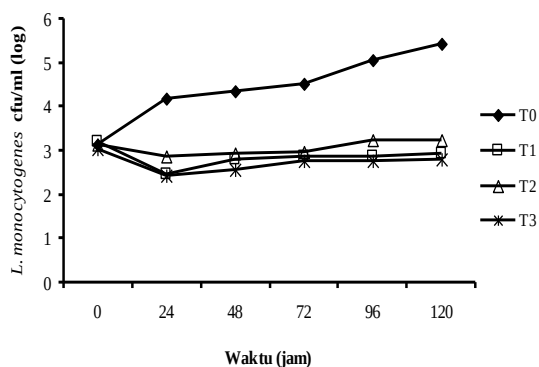
Gambar 2. Kurva Jumlah Bakteri Termotoleran dalam Susu Pasteurisasi dengan Perlakuan : Kontrol (T0), Amylosin 64 AU/ml (T1), Nisin 625 AU/ml (T2), Gabungan Amylosin dan nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml) (T3)

Pada kontrol jumlah bakteri termotoleran meningkat sampai 30% dari log 2,62 pada hari ke 0 menjadi log 3,41 pada hari ke 12. Menurut Motlagh *et al.* (1992) efektivitas bakteriosin juga sangat dipengaruhi oleh jenis dan tingkat sensitivitas suatu bakteri. Penambahan bakteriosin dapat menghambat pertumbuhan bakteri psikrotropik dalam bahan

makanan misalnya pediosin AcH (Rozbeh *et al.*, 1993). Bakteriosin lebih efektif bila makanan terlebih dahulu diberi perlakuan pemanasan Buchanan dan Klawitter (1992a). Efek antibakterialnya lebih besar dengan menggabungkan dua atau lebih bakteriosin (Hanlin *et al.*, 1993).

Pengaruh Penambahan Amylosin dan Gabungan Amylosin dengan Nisin terhadap jumlah *L. monocytogenes* dan *S. aureus* dalam Susu Pasteurisasi.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah *L. monocytogenes* dan *S. aureus* menurun setelah jam ke 24. Jumlah *L. monocytogenes* menurun menjadi log 1,71 pada penambahan amylosin (64 AU/ml), log 132 pada penambahan amylosin (32 AU/ml) dan log 1, 77 pada gabungan amylosin dan nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml) dibandingkan dengan kontrol (Gambar 3).



Gambar 3. Kurva Jumlah *L. monocytogenes* dalam Susu Pasteurisasi dengan Perlakuan : Kontrol (T0), Amylosin 64 AU/ml (T1), Amylosin 32 AU/ml (T2), Gabungan Amylosin nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml) (T3)

Penambahan gabungan nisin dengan amylosin pada pengamatan jam ke 120 dapat menurunkan jumlah *L. monocytogenes* sampai 49% dibandingkan kontrol menjadi log 2,79, begitu juga dengan penambahan amylosin (64 AU/ml) menurun 46% menjadi log 2,94 dan penambahan amylosin (32 AU/ml) juga terjadi penurunan 41% menjadi log 3,25. Penurunan dimulai setelah pengamatan jam ke 24 sebesar 42% untuk amylosin dan gabungan amylosin dengan nisin. Amylosin (32 AU/ml) hanya

menurunkan 31% *L. monocytogenes* dibanding dengan kontrol.

Berdasarkan analisis sidik ragam menunjukkan bahwa penambahan amylosin, dan gabungan amylosin dengan nisin pengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap penurunan jumlah *L. monocytogenes*. Berdasarkan uji Duncan ternyata hasil dari rata-rata perlakuan memperlihatkan tidak ada perbedaan yang nyata dengan penambahan ketiga macam bakteriosin, yang berarti dosis yang berbeda dari bakteriosin yang digunakan sama efektifnya untuk menurunkan jumlah *L. monocytogenes* (Tabel 1).

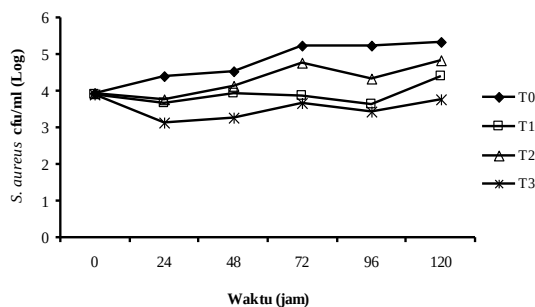
Tabel 1. Rata-rata jumlah *L. monocytogenes* dalam Susu Pasteurisasi

Jenis Bakteri	Perlakuan			
	Jumlah cfu/ml Susu (Log) pada Penyimpanan 10°C			
	Kontrol	Amylosin (64 AU/ml)	Amylosin (32 AU/ml)	Amylosin dan nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml)
<i>L. monocytogenes</i>	4,438 ^a	2,850 ^b	3,063 ^b	2,728 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata ($P > 0,01$)

Penambahan amylosin, setengah dosis amylosin dan gabungan amylosin dengan nisin dapat menurunkan jumlah *L. monocytogenes*. Amylosin mempunyai efek bakterisida walaupun dosis yang digunakan hanya 64 AU/ml susu dibandingkan dengan menggabungkan amylosin dengan nisin. Efektifitas bakteriosin juga tergantung pada jenis dan konsentrasi bakteriosin serta jumlah dari *L. monocytogenes* (Motlagh *et al.*, 1991). Banyak bakteriosin yang sudah dihasilkan oleh BAL mempunyai efek bakterisida terhadap *L. monocytogenes* sehingga bisa digunakan untuk mencegah terjadinya kontaminasi setelah pasteurisasi (Schillinger dan Lucke, 1989; Monticello dan O'Connor, 1990; Motlagh *et al.*, 1992; Masnier-Patin *et al.*, 1992; El-Khateib *et al.*, 1993). Bahan makanan yang disimpan pada temperatur dingin dengan penambahan bakteriosin produksi BAL efektif menurunkan jumlah *L. monocytogenes* (Buchanan dan Klawitter, 1992a; 1992b). Efektifitas bakteriosin juga sangat dipengaruhi oleh jenis dan jumlah makanan yang digunakan (Schillinger dan Lucke, 1991).

Penambahan amylosin dan gabungan amylosin dengan nisin dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Jumlah *S. aureus* menurun menjadi log 0,75 pada penambahan amylosin (64 AU/ml), log 0,64 pada penambahan amylosin (32 AU/ml) dan log 1,27 pada gabungan amylosin dan nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml) dibandingkan dengan kontrol (Gambar 4). Menurut Piard dan Desmazeud (1992) bahwa dengan menggunakan dua bakteriosin atau lebih produksi BAL maka sifat anibakterialnya lebih efektif.



Gambar 4. Kurva Jumlah *S. aureus* dalam Susu Pasteurisasi dengan Perlakuan : Kontrol (T0), Amylosin 64 AU/ml (T1), Amylosin 32 AU/ml (T2), Gabungan Amylosin dan nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml) (T3)

Jika dibandingkan dengan kontrol jumlah *S. aureus* setelah pengamatan pada jam ke 24 menurun dari log 3,9 menjadi log 0,75, 0,64, dan 1,27, atau 17, 15 dan 29% pada masing-masing penambahan amylosin (64 AU/ml) dan amylosin (32 AU/ml). Begitu pula setelah pengamatan jam ke 120 dibandingkan kontrol menurun menjadi 18, 8, dan 30%. Jika dibandingkan dengan jumlah awal setelah pengamatan pada jam ke 120 terjadi peningkatan 12 dan 23% dengan penambahan amylosin (64 AU/ml) dan amylosin (32 AU/ml), sedangkan pada penambahan gabungan nisin dengan amylosin terjadi penurunan 3,5%. Berarti dengan menggabungkan amylosin dengan nisin akan mempunyai efek bakterisida terhadap *S. aureus*. Berdasarkan perlakuan dengan penambahan amylosin maka terlihat adanya sifat antibakterial terhadap *S. aureus* dan diperlakukannya kerjasama antar bakteriosin untuk menurunkan jumlah *S. aureus*. Tidak adanya aktivitas terhadap *S. aureus* diperlihatkan juga oleh lasidin A

produksi *Lb. acidophilus* OSU 133 (Liao *et al.*, 1994).

Berdasarkan analisis sidik ragam memperlihatkan penambahan amylosin dan gabungan amylosin dengan nisin berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap penurunan jumlah *S. aureus*. Berdasarkan uji Duncan tidak pengaruh perlakuan pada penambahan amylosin 64 AU/ml dan gabungan amylosin dengan nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml) terhadap jumlah *S. aureus* (Tabel 2).

Berdasarkan pengamatan memperlihatkan ada sensitivitas yang berbeda, dimana *L. monocytogenes* lebih sensitif dibandingkan *S. aureus*. Perbedaan tingkat sensitivitas bisa dipengaruhi oleh jenis bakteri (Stiles dan Hasting, 1991). Selama penyimpanan pada suhu 10°C terjadi peningkatan pada kedua bakteri tersebut terutama setelah pengamatan jam ke 48, sedangkan kontrol meningkat pada pengamatan jam ke 24. Pada pengamatan setelah jam ke 120 juga terjadi penurunan bila dibandingkan dengan kontrol. Berdasarkan hasil penelitian terlihat bahwa efektifitas amylosin terhadap *L. monocytogenes* berbeda dengan *S. aureus*.

Tabel 2. Rata-rata jumlah *S. aureus* dalam Susu Pasteurisasi

Jenis Bakteri	Perlakuan			
	Jumlah cfu/ml Susu (Log) pada Penyimpanan 10°C			
	Kontrol	Amylosin (64 AU/ml)	Amylosin (32 AU/ml)	Gabungan amylosin dan nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml)
<i>S. aureus</i>	4,780 ^a	3,893 ^c	4,290 ^b	3,532 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata ($P > 0,01$)

Menurut Marugg (1991); Nettles dan Barefoot (1993), pada umumnya bakteriosin yang dihasilkan BAL menghambat bakteri lain yang mempunyai hubungan kekerabatan lebih erat dengan panghasil bakteriosin tersebut, misalnya genus *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, serta mempunyai hambatan lebih luas misalnya terhadap *Listeria* sp. *Bacillus* sp, *Clostridium* sp, *Mycobacterium* sp dan *Staphylococcus* sp. Dari hasil penelitian juga terlihat bahwa amylosin yang dihasilkan oleh *Lb. amylovorus* US 121 dapat dikelompokkan pada bakteriosin memiliki hambatan yang luas.

KESIMPULAN

1. Amylosin 64 AU/ml mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri psikrotropik, termodurik dan *L. monocytogenes* dalam susu pasteurisasi. Gabungan amylopsin dan nisin (32 AU/ml + 312,5 AU/ml) dapat menurunkan jumlah *S. aureus* dalam susu pasteurisasi selama 120 jam pada suhu 10°C.
2. Amylosin 64 AU/ml susu dapat digunakan sebagai biopreservatif untuk memperpanjang daya simpan susu pasteurisasi selama 12 hari pada suhu 10°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Barefoot, S.F., Nettles, C.G., 1993. Antibiotics Revisited : Bacterious Produced by Dairy Starter Cultures. *J. Dairy Sci.* 76 : 2366-2379.
- Buchanan, R.L. and Klawitter, L.A., 1992a. Effectiveness of *Carnobacterium piscicola* LK5 for Controlling the Growth of *Listeria monocytogenes* Scott A in Refrigerated Foods. *J. Food Safety.* 12: 219-236.
- Buchanan, R.L. and Klawitter, L.A., 1992b. Characterization of a Lactic Acid Bacterium, *Carnobacterium piscicola* LK5, with Activity Against *Listeria monocytogenes* at Refrigeration Temperatures. *J. Food Safety.* 12: 199-217.
- El-Khateib, T., Yousef, A.E. and Ockerman, H.W., 1993. Inactivation and Attachment of *Listeria monocytogenes* on Beef Muscle Treated with Lactic Acid and Selected Bacteriocins. *J. Food Protection.* (56) 1 : 29-33.
- Fox, B.A. and Cameron, A.G., 1989. Food Science, Nutrition and Health. 5th ed. Edward Arnold, London.
- Hanlin, M.B., Kalchayanand, N., Ray, P. and Ray, B., 1993. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria in Combination Have Greater Antibacterial Activity. *J. Food Protection.* 56: 252-255.
- Harris, E.L.V., 1989. Concentration of The Extract. In: *Methods a Practical Approach.* Oxford University Press, Oxford.
- Hobbs, B.C. and Roberts, D., 1997. Food Poisoning and Food Hygiene. 5th ed. Edward Arnold, London.
- Holzappel, W.H., Geisen, R. and Schillinger, U., 1995. Biological Preservation of Foods with Reference to Protective Cultures, Bacteriocins and Food-Grade enzymes. *Int. J. Food Microbiol.* 24: 343-362.
- Liao, Chii-Cherng, Yousef, A.E., Chism, G.W. and Ritcher, E.R., 1994. Inhibition of *Staphylococcus aureus* in Buffer, Culture Media and Foods by Lacidin A, a Bacteriocin Produced by *Lactobacillus acidophilus* OSU 133. *J. Food Safety.* 14: 87-101.
- Marugg, J.D., 1991. Bacteriocins, Their Role in Developing Natural Products. *Food Biotechnology.* 5: 305-312.
- Masnier-Patin, S., Deschamps, N., Tatini, S.R. and Richard, J., 1992. Inhibition of *L. monocytogenes* in Camembert Cheese made with a Nisin-Producing Starter. *Lait*, 72: 249-263.
- Monticello, D.J. and O'Connor, D., 1990. Lysis of *L. monocytogenes* by Nisin, Chapter 14: 18-83. In: *Foodborne Listeriosis.*
- Motlagh, A.M., Johnson, M.C. and Ray, B., 1991. Viability Loss of Foodborne Pathogenes by Starter Culture Metabolites. *J Food Protection.* 54: 873-878, 884.
- Motlagh, A. M., Holla, S., Johnson, M.C., Ray, B. and Field, R.A., 1992. Inhibiton of *Listeria.spp* in Sterile Food System by Pediocin AcH, A Bacteriocin Produced by *Pediococcus acidilactic* H. *J. Food Protection.* 55: 337-343.
- Mustafa, Z., 1990. Microstat untuk Mengolah Data Statistik. Andi Offset, Yogyakarta.
- Nettles, C.G. and Barefoot, S.F., 1993. Biochemical and Genetic Characteristic of Bacteriocins of Food Associated Lactic Acid Bacteria. *J. Food Protection.* 56: 338-356.
- Ray, B., 1992. Nisin of *Lactobacillus lactis* ssp Lactis as a Food Biopreservative, 207-264. In: B. Ray and M. Daeschel (ed). *Food Biopreservatives of Microbial Origin.* CRC Press. Boca Raton.

- Rozbeh, M., Kalchayanand, N., Field, R.A., Johnson, M.C. and Ray, B., 1993. The Influence of Biopreservatives on the Bacterial Level of Refrigerated Vacuum Package Beef. *J. Food Safety*. 13 : 99-111.
- Schillinger, U. and Lucke, F.K., 1989. Antibacterial Activity of *Lb. sake* Isolated from Meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 8:1901-1906.
- Schillinger, U. and Lucke., F.K., 1991. Behavioral of *L. monocytogenes* in Meat and Its Control by a Bacteriocin-Producing Strain of *Lb. sake*. *J. Appl. Bacteriology*. 70: 473-478 .
- Schillinger, U. Becker, B. and Holzapfel, W.H., 1995. Antilisterial Activity of Carnocin 54, a by Bacteriocin from *Leuconostoc carnosum*. *Food Microbiol.* 12: 31-37.
- Sofos, J. N., 1993. Current Microbiological Consideration in Food Preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 19: 87-108.
- Stiles, M.E. and Hastings, J.W., 1991. Bacteriocin Production by Lactic Acid Bacteria: Potential for Use in Meat Preservation. Review. *Trends in Food Science and Technology*. 10: 247-251.
- Sudarwanto, M., 1996. Komposisi dan Pembentukan Susu. *Kursus Singkat Jaminan Mutu dalam Industri Susu*. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sudirman, I., Mathieu, F., Michael, M. and Lefebvre, G., 1993. Detection and Properties of Curvaticin 13, a Bacteriocin-Like Substance Produced by *Lactobacillus curvatus* SB 13. *Current Microbiol.* 27: 35-40
- Swanson, K.M.J., Busta, F.F., Peterson, E.H. and Johnson, M.G., 1992. Colony Count Methods. In: C. Vanderzant and D. F. Splittstoesser (ed). *Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods*. 3rd ed. American Public Health, Washington.
- Winkowski, K. and Montville, T.J., 1992. Use of Meat Isolate, *Lactobacillus bavaricus* MN to Inhibit *Listeria monocytogenes* Growth in Model Meat Gravy System. *J. Food Safety* 13: 19-31.