

# **Efek Dekontaminasi Karkas Ayam Pedaging Menggunakan Asam Asetat, Asam Sitrat dan Kombinasinya Terhadap Angka Lempeng Total *Campylobacter sp.***

**(Effect of poultry carcass decontamination by acetic acid, citric acid and its combination to total plate count of *Campylobacter sp.*).**

**Zalhendra Eka Putra<sup>1</sup>, Nurliana<sup>2</sup> dan Razali<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Kesmavet, Program Pascasarjana Universitas Syiah Kuala Banda Aceh

<sup>2</sup>Laboratorium Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala Banda Aceh

**ABSTRACT** This research aimed to detect the total number of *Campylobacter sp.* on poultry carcass after decontamination by acetic acid, citric acid and combination of both. This research was conducted in the Laboratory of Veterinary Public Health Syiah Kuala University, Banda Aceh. The research was factorial completely randomized designed. Samples of poultry carcass were obtained from the Lamnyong market, Banda Aceh. Sixty poultry carcasses were divided into three groups of treatment and one group without treatment. Observation of each treatment was five time replicated at 0, 2, 4, 6 and 8 hours after immersion for ± 30 seconds in each of the decontamination material. Observation of *Campylobacter sp.* was done by inoculating every sample on CM0739

selective *Campylobacter* Blood free selective agar base and CCDA Selective supplement SR0155E. Measurements of Total Plate Count (TPC) *Campylobacter sp.* according to Standard Plate Count (SPC). Data was variance analyzed (ANOVA) using SPSS. The results of research showed that the growing colonies of *Campylobacter sp.* were indicated by white colony with surrounded by black zone. Immersion of poultry carcass with acetic acid, citric acid and combination of the both and the observation time had no influence ( $P>0,05$ ) to ALT *Campylobacter sp.* The research was concluded that carcass to *Campylobacter sp.* The immersion by acetic acid, citric acid and combination of both and the observation time were not reduce *Campylobacter sp.* in poultry carcass.

**Keywords :** Acetic acid, *Campylobacter sp.*, citric acid, decontamination, poultry carcass.

**2014 Agripet : Vol (14) No. 2 : 96-101**

## **PENDAHULUAN**

Bakteri *Campylobacter sp.* adalah agen foodborne zoonosis yang menyebabkan gastroenteritis akut pada manusia. Kejadian *Campylobacteriosis* telah banyak dilaporkan baik di negara-negara maju maupun berkembang. Beberapa jenis bakteri patogen yang dapat mengkontaminasi atau mencemari bahan pangan khususnya daging ayam antara lain *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Campylobacter sp.*, *Staphylococcus aureus* (Ewen *et al.*, 2009). Di Beberapa Negara maju, kejadian *Campylobacteriosis* lebih banyak dibandingkan kejadian *Salmonellosis*. *Campylobacter sp.* merupakan bakteri penyebab kasus diare bakterial di Amerika Serikat. Jumlah kasusnya melebihi kasus

*Salmonellosis* yakni sebesar 2.000.000-4.000.000/tahun. *Campylobacter sp.* dapat menular ke manusia melalui daging (Rivoal *et al.*, 2005). Mengkonsumsi daging ayam yang tidak dimasak sempurna merupakan penyebab utama kejadian *Campylobacteriosis* (Gregory *et al.*, 1997). Sebanyak 55%, 20%, dan 30% *Campylobacter jejuni* diisolasi di Taiwan masing-masing dari karkas ayam, bebek, babi, dan susu segar (Shao *et al.*, 2006).

Sebanyak 64,7% karkas ayam di Irlandia Utara telah terkontaminasi oleh *Campylobacter jejuni* dan *Campylobacter coli* (Flynn *et al.*, 1994).

Data kejadian *Campylobacteriosis* pada manusia di Indonesia tidak dilaporkan secara lengkap. Menurut Poeloengan dan Noor (2003), karkas ayam yang diperoleh dari pasar tradisional dan swalayan di daerah DKI

Corresponding author : zalhendraekaputra@gmail.com

Jakarta, Sukabumi dan Bogor telah terkontaminasi *Campylobacter jejuni*.

Kejadian infeksi *Campylobacter sp.* pada hewan sangat bervariasi, Infeksi yang terjadi pada peternakan ayam memegang peranan penting dalam penyebaran atau kontaminasi *Campylobacter sp.* karena ayam yang sehat dapat membawa *Campylobacter sp.* dalam saluran ususnya. Tinja ayam mengandung bakteri yang berpotensi mencemari daging sehingga mengkonsumsi daging ayam merupakan salah satu faktor risiko terinfeksi *Campylobacter sp.* (Andriani *et al.*, 2013). Tahapan proses seperti *scalding*, pencabutan bulu, pengeluaran jeroan serta pencucian memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kontaminasi bakteri (Morschedy dan Sallam, 2009).

Kejadian infeksi *Campylobacter sp.* pada manusia biasanya disebabkan karena memakan makanan yang terkontaminasi bakteri tersebut. Mengkonsumsi daging mentah dan daging tanpa pemasakan sempurna merupakan sarana pembawa infeksi *Campylobacter sp.* ke manusia (Evans *et al.*, 1998). Bukti-bukti menunjukkan bahwa daging mentah terutama daging ayam merupakan sumber utama infeksi ke manusia meskipun sumber-sumber lainnya seperti susu mentah dan air berperan dalam infeksi (Doyle and Erickson, 2006).

Setiap tahap proses produksi ayam dan pengolahannya memberi peluang terjadinya kontaminasi beberapa mikroorganisme. Jumlah awal bakteri merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap masa simpan karkas. Karkas ayam dengan tingkat bakteri yang tinggi mempunyai masa simpan pendek, maka diperlukan upaya untuk menurunkan jumlah awal bakteri secara murah dan mudah diterapkan yaitu dengan menggunakan dekontaminasi bahan pangan. Menurut Rushton *et al.*, (2009), dengan melakukan dekontaminasi karkas dapat mengurangi atau menghilangkan patogen pada saat pengolahan.

Metode dekontaminasi yang berpeluang besar untuk dikembangkan dan diterapkan pada rumah potong hewan di Indonesia adalah penggunaan asam organik alami seperti asam sitrat, asam asetat, asam

laktat dan asam malat (Andriani *et al.*, 2013). Menurut Russel dan Gonzalez (1997), asam sitrat dan asam asetat dapat digunakan sebagai antimikroorganisme dan mengurangi infeksi bakteri. Kedua asam tersebut terbukti mempunyai efek antibakteri terhadap spesies bakteri yang berbeda, termasuk *Campylobacter sp.*. Selain itu, menurut Rahardjo (2012), asam asetat dan asam sitrat dapat meningkatkan umur simpan produk serta untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme patogen pada permukaan produk dan keduanya memiliki pengaruh yang signifikan terhadap penghambatan pertumbuhan mikroorganisme pada daging.

Kemampuan senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya dipengaruhi oleh tingkat keasaman (pH), suhu, protein, lemak, karbohidrat dan aktivitas air (Ultee *et al.*, 1998). Menurut Hwan *et al.*, (2009), faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba asam organik dan efektivitas asam organik meliputi pH, kosentrasi asam dan fase pertumbuhan mikroorganisme serta suhu. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh perendaman asam asetat, asam sitrat dan kombinasi keduanya terhadap aktivitas dekontaminasi dan kemampuan menurunkan Angka Lempeng Total *Campylobacter sp.* pada karkas ayam pedaging.

## MATERI DAN METODE

### Materi Penelitian

Sebanyak 60 karkas ayam pedaging yang diperoleh dari tempat pemotongan ayam di pasar Lamnyong Kota Banda Aceh digunakan sebagai materi penelitian.

### Preparasi Sampel

Sampel berupa karkas ayam pedaging sebanyak 60 karkas dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dan 5 pengamatan serta 1 kelompok tanpa perlakuan, setiap kombinasi perlakuan terdiri dari 3 karkas ayam pedaging, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan direndam di dalam larutan asam asetat 3%, asam sitrat 3% dan kombinasi keduanya

selama 30 detik, selanjutnya karkas diambil bagian dada sebanyak 10 gram.

### Pemeriksaan *Campylobacter* sp.

Dalam penelitian ini digunakan metode Stern *et al.*, (1992), setiap sampel daging bagian dada dihomogenkan dengan menggunakan *stomacher* ± 90 ml *Buffered Pepton Water* (BPW), selanjutnya sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi berisikan ± 9 ml BPW.

Sampel dilakukan pengenceran sampai  $10^6$  kemudian sampel dimasukkan ke dalam *petri disc steril* lalu diuji angka lempeng total dengan menggunakan *Campylobacter* sp. *Blood free selective agar base* yang sebelumnya dimasukkan CCDA *Selective Supplement* SR0155E 0,5 ml dalam 125 ml media. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 42 °C selama 24 jam.

### Menghitung Jumlah *Campylobacter* sp. Menggunakan Standar Plate Count

Koloni *Campylobacter* sp. yang tumbuh dalam cawan petri dihitung berdasarkan *Standar Plate Count* (Fardiaz, 1992). Metode hitungan cawan petri mengandung jumlah koloni lebih dari 250 mikroorganisme atau memerlukan perlakuan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium agar di cawan petri. Jumlah koloni yang dapat dihitung antara 25-250 koloni. Hasil penghitungan dinyatakan dengan *Coloni Forming Unit* (CFU) per gram. Perhitungan dilakukan pada koloni berwarna putih dengan dikelilingi zona kehitaman yang tumbuh pada media *plate count agar* *Campylobacter* sp. *blood free selective agar base*.

### Analisis Data

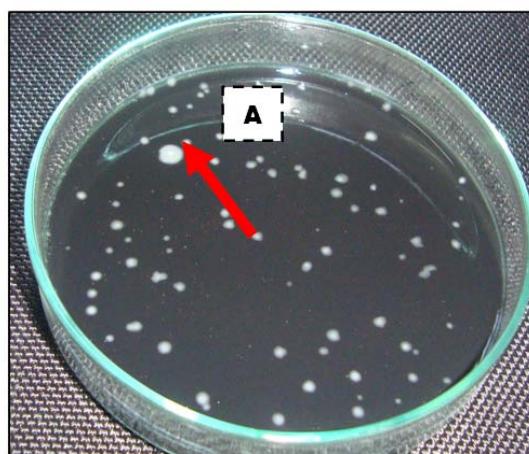
Data dianalisis ragam ANOVA menggunakan program *Statistic Program for Social Science* (SPSS) versi 17. Perbedaan perlakuan dilanjutkan dengan uji BNt (Walpole, 1995).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Deteksi *Campylobacter* sp.

Berdasarkan hasil pemeriksaan terhadap 60 sampel karkas ayam pedaging

diperoleh koloni yang berwarna putih dengan dikelilingi zona kehitaman seperti yang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni *Campylobacter* sp. dalam media *Campylobacter* sp. *blood free selective agar base*. (A) koloni *Campylobacter* sp.

Koloni yang berwarna putih dengan dikelilingi zona kehitaman dikarenakan konsentrasi CCDA *Selective Supplement* SR0155E mengandung *cefoperazone* 32 ml/liter berfungsi sebagai agen selektif untuk menghambat sintesis dinding sel bakteri, meningkatkan selektifitas dan menghambat pertumbuhan gram negatif dan *amphotericin* B 10 ml/liter berfungsi sebagai pertumbuhan bakteri kontaminan dalam media *Campylobacter*.

Konsentrasi media *Campylobacter* sp. *blood free selective agar base* mengandung *Nutrient broth* 25 g/liter, *bacteriological charcoal* 4 g/liter, *casein hydrolysate* 3 g/liter, *sodium desoxycholate* 1 g/liter, *ferrous sulfate* 0.25 g/liter, *sodium pyruvate* 0.25 g/liter, agar 12 g/liter, dan *deionized water* 1 liter berfungsi sebagai nutrisi untuk pertumbuhan *Campylobacter* sp. (Stern *et al.*, 1992).

### Jumlah *Campylobacter* sp. pada Karkas Ayam Setelah dicelupkan dalam Larutan Asam Asetat 3%, Asam Sitrat 3% dan Kombinasi Keduanya

Angka Lempeng Total tertinggi  $\log_{10}$  6,1 cfu/g pada pencelupan asam asetat 3% waktu pengamatan 0 jam dan jumlah Angka Lempeng Total terendah  $\log_{10}$  3,2 cfu/g pada

pencelupan kontrol waktu pengamatan 4 jam seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah *Campylobacter sp.* ( $\log_{10}$  cfu/g) pada karkas ayam pedaging

Waktu (jam)	Asam asetat 3%	Asam sitrat 3%	Kombinasi keduanya	Kontrol	Rata-rata
0	6,4±1,1	5,4±1,8	5,0±0,5	6,1±1,6	5,7±1,3
2	5,9±1,3	5,5±1,5	5,4±0,2	6,7±0,4	5,9±0,9
4	6,2±1,1	5,1±1,3	3,0±3,5	3,2±2,5	4,4±2,1
6	4,8±1,3	5,6±1,9	5,5±1,8	4,7±0,4	5,2±1,4
8	5,3±1,0	4,6±1,5	6,2±1,5	4,5±3,1	5,2±1,8
Rata-rata	5,7±1,2	5,2±1,6	5,0±1,5	5,0±1,6	

Perlakuan pencelupan menggunakan asam asetat 3%, asam sitrat 3% dan kombinasi keduanya tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ). Hal ini dikarenakan konsentrasi perlakuan menggunakan asam organik masih rendah hanya sebesar 3%. Menurut Andriani *et al.*, (2013), dekontaminasi karkas ayam menggunakan asam organik seperti yang biasa dilakukan pada karkas ayam yang dijual di pasar tradisional dan swalayan dengan konsentrasi 5% dapat menurunkan jumlah *Campylobacter sp.* sebesar 1 log cfu/g. Waktu pengamatan 0 jam sebelum pencelupan dan 2, 4, 6, serta 8 jam setelah pencelupan karkas ayam pedaging menggunakan asam asetat 3%, asam sitrat 3% dan kombinasi keduanya tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap penurunan jumlah *Campylobacter sp.* pada karkas ayam pedaging. Menurut Meldrum *et al.*, (2005), karkas ayam yang dijual di pasar tradisional lebih rendah daripada swalayan, hal ini disebabkan karkas yang diambil dari pasar tradisional dijual tanpa penutup mengakibatkan banyak bakteri baik patogen maupun non patogen yang tumbuh sehingga mengurangi kesempatan *Campylobacter sp.* untuk memperbanyak diri. Di pasar Lamnyong, karkas dijual tanpa dibungkus plastik sehingga tidak memberikan kondisi atmosfer yang lebih optimal bagi pertumbuhan *Campylobacter sp.* yang bersifat mikroaerofilik, di mana adanya oksigen diudara dapat mengganggu pertumbuhan *Campylobacter sp.* Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Balamurugan *et al.*, (2011) dan Hilbert *et al.*, (2010), bahwa kemasan vakum pada karkas dan tidak adanya

mikroflora normal yang tumbuh pada kemasan vakum dapat meningkatkan kemampuan tumbuh dan berkembangnya *Campylobacter jejuni* serta perbedaan waktu penyimpanan karkas ayam mempengaruhi kemampuan pertumbuhan *Campylobacter sp.*

Angka Lempeng Total *Campylobacter sp.* pada pencelupan asam asetat 3% pada karkas ayam pedaging, jam ke-0 adalah  $\log_{10} 6,4\pm1,1$  cfu/g dan turun pada jam ke-8 sebesar  $\log_{10} 5,3\pm1,0$  cfu/g, sedangkan ALT *Campylobacter sp.* pada perlakuan pencelupan kombinasi keduanya sebesar pada jam ke-0  $\log_{10} 5,0\pm0,5$  dan naik sebesar  $\log_{10} 6,2\pm1,5$  cfu/g pada pengamatan jam ke-8. Menurut Andriani *et al.*, (2013), jumlah *Campylobacter sp.* pada daging ayam adalah  $>10^5$  cfu per karkas. Jumlah ALT *Campylobacter sp.* pada perlakuan kontrol meningkat selama penyimpanan dan menurun pada waktu pengamatan jam ke-4 sebesar  $\log_{10} 3,2\pm2,5$  cfu/g sedangkan perlakuan yang menggunakan asam sitrat 3% dari jam ke-0  $\log_{10} 5,4\pm1,8$  cfu/g menurun pada waktu pengamatan jam ke-8 sebesar  $\log_{10} 4,6\pm1,5$  cfu/g.

Perlakuan asam asetat 3%, asam sitrat 3%, kombinasi keduanya dan kontrol diinkubasi pada suhu 42 °C sesuai dengan hasil penelitian Mayr *et al.*, (2010), bahwa *Campylobacter sp.* dapat tumbuh pada suhu 42°C dan tidak mampu tumbuh di bawah suhu 30°C. Efektivitas asam organik sebagai dekontaminan untuk menurunkan jumlah bakteri pada permukaan karkas dipengaruhi oleh konsentrasi asam, waktu dekontaminasi dan metode yang dipakai (Jimenez *et al.*, 2005). Davidson dan Branen (1997) menyatakan asam asetat dan asam sitrat dapat mengawetkan bahan pangan dengan cara mengontrol pertumbuhan bakteri. Menurut Laury *et al.*, (2009), asam sitrat memiliki efek penghambatan tertinggi karena kemampuannya untuk menyebar melalui membran sel. Asam asetat mudah memasuki membran dari mikroorganisme, hal ini sangat berpengaruh dalam proses penghambatan transport pada membran bagi perkembangan mikroorganisme sehingga asam asetat sangat baik digunakan dalam proses pengawetan karkas (Andriani *et*

*al.*, 2007). Rahman (1999) menyatakan asam asetat aman digunakan sebagai bahan pengawet dan tidak ada batas maksimal untuk dikonsumsi oleh manusia, sehingga mampu menurunkan jumlah total mikroorganisme dibandingkan dengan kelompok kontrol.

## KESIMPULAN

Asam asetat, asam sitrat dan kombinasi keduanya tidak mempunyai aktivitas dekontaminasi terhadap *Campylobacter sp.* dan tidak berpengaruh nyata terhadap kemampuan menurunkan Angka Lempeng Total (ALT) *Campylobacter sp.* pada karkas ayam pedaging.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, Darmono dan Kurniawati, W., 2007. Pengaruh Asam Asetat dan Asam Laktat Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Salmonella sp.* Yang Diisolasi Dari Karkas Ayam. Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner, Balai Besar Penelitian Veteriner. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. 930 - 934
- Andriani., Soedarwanto, M.S., Surachmi., Kusumaningrum, H.D., 2013. Kajian Risiko *Campylobacter sp.* pada ayam panggang. Jurnal Kedokteran Hewan. 7(1) : 56 : 60.
- Balamurugan, S., Nattress, F.M., Baker, L.P., Dilts, B.D., 2011. Survival of *Campylobacter jejuni* on beef and pork under vacuum packaged and retail storage conditions: examination of the role of natural meat mikroflora on *C. jejuni* survival. Food Microbiol. 28: 1003-1010
- Davidson, P.M and Branen, A.L., 1997. Antimicrobials in Food, 2<sup>nd</sup>.ed. University of Idaho. Moscow, Marell Dekker. New York.
- Doyle, M.P., Erickson, M.C., 2006. Reducing the carriage of foodborne pathogens in livestock and poultry. Poult Sci. (85): 960-973.
- Evans, MR., Lane, W., Frost, J.A., Nylen, G., 1998. A *Campylobacter* outbreak associated with stir-fried food. Epidemiol Infect 12 : 275-279.
- Ewen, C.D., Todd., Judy, D.G., Charles, A.B., S.M., 2009. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. part6. transmission and survival of pathogens in the food processing and preparation environment. Poult Sci. 72(1): 202-219.
- Fardiaz, S., 1992. Analisa Mikrobiologi Pangan. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Flynn, O.M.J., Ian, S.B., David, A.M., 1994. Prevalence of *Campylobacter sp* on fresh retail chicken wings in Northern Ireland. J Food Prot. 57(4) : 334-336.
- Gregory, E., Barnhart, H., Dreesen, D.W., Stern, N.J., Corn, J.L., 1997. Epidemiological study of *Campylobacter spp.* In broiler: source, time of colonization and prevalence. Avian Dis. 41(4): 890-898.
- Hilbert, F., Scherwitzel, M., Paulsen, P., Szostak, M., 2010. Survival of *Campylobacter jejuni* under condition of atmospheric oxygen tension with the support of *Pseudomonas spp.* Appl Environ Microbiol. 76: 5911-5917.
- Hwan, O.D., Pan, Youwen., Berry., Elaine., Cooley., Michael., Madrell., Robert., 2009. *Escherichia coli* 0157: H7 Strains Isolated From Environmental Sources Differ Significantly in Acetic Acid Resistance Compared With Human Outbreak Strains. Poult Sci. 72(3): 503-509.
- Jime nez, S.M., Destefanis, P., Saisi, M.S., Tiburzi, M.C., Pirovani, M.E., 2005. Predictive model for reduction of *Escherichiacoli* during acetic acid decontamination of chicken skin. J.Appl. Microbiol. (99) : 829-835.

- Laury, A.M., Alvarado, M.V., Nace, G., Alvarado, C.Z., Brooks, J.C., Echeverry, A., Brashears, M.M., 2009. Validation of a lactic acid and citric acid-based antimicrobial product for the reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on beef tips and whole chicken carcasses. *J. Food Protect.* 72 (10) : 2208-2211.
- Mayr , A.M., Lick, S., Bauer, J., Tharigen, D., Busch, U., Huber, I., 2010. Rapid Detection and Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Campylobacter lari* in Food, Using Multiplex Real Time PCR. *J. Food Protect.* 73(2) : 241-250
- Meldrum, R.J., Tucker, D., Smith, R.M.M., Edwards, C., 2005. Survey of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of whole, raw poultry on retail sale in Wales in 2003. *J. Food Protect* 68: 1447-1449.
- Morshed, A.E.M.A., Sallam, K.I., 2009. Improving the microbial quality and shelf life of chicken carcasses by trisodium phosphate and lactic acid dipping. *Int. J. Poult. Sci.* 8(7) : 645-650.
- Poeloengan, M. dan Noor, S.M., 2003. Isolasi *Campylobacter jejuni* pada daging ayam dari pasar tradisional dan supermarket. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, Puslitbang Peternakan. 522 : 526.
- Rahardjo, A.H.D., 2012. Efektivitas Jeruk Nipis dalam Menurunkan Bakteri *Salmonella* sp dan *Escherichia Coli* pada Dada Karkas Ayam Broiler. *Ijas.* 2: (3) : 91-94.
- Rahman, M.S., 1999. *Handbook of Food Preservation.* New York. Marcel Dekker Inc.
- Rivoal, K., Ragimbeau, C., Salvat, G., Colin, P., Ernel, G., 2005. Genomic Diversity of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* Isolates Recovered from Free-Range Broiler Farms and Comparison eith Isolates of Various Origins. *App Environ Microbiol.* 71(10) : 6216-6227.
- Rushton, S.P., Humphrey, T.J., Shirley, M.D.F., Bull S., Jorgensen, F., 2009. *Campylobacter Sp.* in housed broiler chickens: a longitudinal study of risk factors. *Epidemiol Infect.* (137): 1099-1110.
- Russell, J.B., Gonzalez, D.Z., 1998. The effects of fermentation acids on bacterial growth. *Adv Microb Physiol* (39): 205-234..
- Shao, W.F., Yang, C.J., Shih, D.Y.C., Chou, C.C., Yu, R.C., 2006. Amplified fragment length polymorphism, serotyping, and quinolone resistance of *Campylobacter coli* strains from chicken related samples and human in Taiwan. *J. Food Prot.* 69 (4) : 775-783.
- Stern, N.J., Charlotte, M.P., Doyle, M.P., Chong, E.P. and A.M. Barbara., 1992. *Compendium of Methods For the Microbiological Examination of Foods.* Vanderzant, C and F.S F. Splittstoesser. (Eds). American Public Health Association.
- Ultee, A., Gorris, L.G.M., Smid, E.J., 1998. Bacterial Activity of Carvacrol Towards the Foodborne Pathogen *Bacillus cereus*. *J Appl Microbiol* (85): 211-216.
- Walpole, R.E., 1995. *Pengantar Statistika.* Jakarta:Gramedia Pustaka Utama.