

Salmonella occurrence and myoglobin (mb) in frozen smoked tuna

Keberadaan *salmonella* dan tingkat kesegaran frozen smoked tuna

Herny Korah^{1*}, Frans G. Ijong², and I Ketut Suwetja²

¹Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi Manado.
Jl. Kampus Unsrat Kleak, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Manado.
Jl. Kampus Unsrat Bahu Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia

*E-mail: hernykorah23@gmail.com

Abstract: This study aimed to quantify *Salmonella*, Total and Total Plate Count (TPC) in fresh tuna loin, frozen tuna loin, and frozen tuna loin filled with CO gas, to analyze the level of freshness of the fish through the test Mb, pH and appearance in fresh tuna loin, frozen tuna loin and frozen tuna loin filled with CO gas, and to describe the presence of *Salmonella* and the provision of value Mb with CO gas. Object of study in this research is the bacterium *Salmonella* and Myoglobin (Mb) in frozen smoked tuna, through the fish freshness analysis (Mb value test, pH, and organoleptic), TPC analysis, total *Salmonella* in fresh tuna (as a positive control), frozen tuna loin and frozen tuna loin frozen filled with CO gas. Results showed total *Salmonella* after incubation at 37 ° C for 24 and 48 hours fresh tuna loin, frozen tuna loin, and frozen tuna loin frozen filled with CO gas were 4.80 x 10² CFU/g and 5.43 x 10² CFU/g; 0.57 x 10² CFU/g and 1.55 x 10² CFU/g; 3.90 x 10² CFU/g; and 8.63 x 10² CFU/g, respectively. Total *Salmonella* tended to decline in frozen tuna, but increase in frozen tuna CO at 48 hours incubation. Mb value was 1.02 for fresh tuna loin, 0.86 for frozen tuna and 0.92 for frozen tuna filled with CO gas, respectively. The pH value was 5.23 in fresh tuna loin, 6.10 in frozen tuna loin, and 6.24 in frozen tuna loin filled with CO gas. Organoleptic value showed that fresh tuna loin was attractive to very attractive, frozen tuna loin was attractive and frozen tuna loin with CO gas was very attractive. TPC incubated at 37 ° C for 24 hours for fresh tuna loin was 11.75 x 10³ CFU/g, for frozen tuna loin was 1.66 x 10³ CFU/g, and frozen tuna loin with CO gas was 1.54x10³ CFU/g. TPC incubated at 37 ° C for 48 hours for fresh tuna loin was 12,13x10³ CFU/g, frozen tuna loin was 1.73 x 10³ CFU/g, and frozen tuna loin with CO gas was CO 1.99 x 10³ CFU/g.

Keywords: frozen smoked tuna; *Salmonella*; myoglobin (Mb)

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis tingkat kesegaran ikan, menghitung *Total Plate Count* (TPC) dan total *Salmonella* pada tuna loin segar, tuna loin beku, dan tuna loin beku yang diberi gas CO, serta mendeskripsikan keberadaan *Salmonella* dan tingkat kesegaran frozen smoked tuna. Objek kajian dalam penelitian ini adalah isolat *Salmonella* dan Mioglobin (Mb) pada frozen smoked tuna, dengan menganalisis kesegaran ikan (uji nilai Mb, pH dan organoleptik), analisis TPC, total *Salmonella* pada tuna segar (sebagai control positif), tuna beku dan tuna beku yang diberi gas CO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Total *Salmonella* yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 dan 48 jam untuk tuna loin segar, beku dan beku yang diberi CO berturut-turut : 4,80 x 10² CFU/g dan 5,43 x 10² CFU/g; 0,57 x 10² CFU/g dan 1,55 x 10² CFU/g; 3,90 x 10²CFU/g; dan 8,63 x 10² CFU/g. Total *Salmonella* cenderung menurun pada tuna beku, tetapi naik pada tuna beku CO dengan lama inkubasi 48 jam. Nilai Mb masing-masing adalah: 1,02 untuk tuna segar, 0,86 untuk loin tuna beku dan 0,92 untuk loin tuna beku yang diberi gas CO. Nilai pH 5,23 untuk loin tuna segar, 6,10 untuk loin tuna beku dan sebesar 6,24 untuk loin tuna beku yang diberi gas CO. Nilai organoleptik 7,55 untuk loin tuna segar (diantara menarik dan sangat menarik), 7,35 loin tuna beku (menarik) dan 7,75 loin tuna beku yang diberi gas CO (sangat menarik). TPC yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam adalah 11,75 x 10³ CFU/g untuk loin tuna segar, 1,66 x 10³ CFU/g untuk loin tuna beku dan 1,54 x 10³ CFU/g untuk loin tuna beku yang diberi gas CO sebesar. TPC yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam 12,13 x 10³ CFU/g untuk loin tuna segar, 1,73 x 10³ CFU/g untuk loin tuna beku dan 1,99 x 10³ CFU/g untuk loin tuna beku yang diberi gas CO.

Kata-kata kunci: frozen smoked tuna; *Salmonella*; mioglobin (Mb)

PENDAHULUAN

Salah satu produk ekspor unggulan Sulawesi Utara yang mempunyai nilai ekonomis penting adalah

frozen smoked tuna. Produk ini berbentuk loin beku dan berwarna merah cerah (Anonimus, 2010). Pada umumnya, produk perikanan mudah mengalami kemunduran mutu baik disebabkan oleh faktor

kimia, fisik maupun biologi. Salah satu kemunduran mutu secara biologi adalah terjadinya kontaminasi mikroorganisme, khususnya bakteri patogen yang berbahaya, seperti *Salmonella*, *Shigella*, dan *Yersinia* (Fardiaz, 1998).

Pada tahun 2008, terjadi kasus penolakan terhadap produk perikanan Indonesia, *Frozen Yellow fin Tuna Saku AA* yang diberi gas CO, di Amerika karena adanya *Salmonella* (Anonim, 2009). Terdapatnya serotip *Salmonella* pada makanan dan produk perikanan mengindikasikan bahwa makanan dan produk tersebut telah terkontaminasi *Salmonella*. *Salmonella* harus negatif dalam daftar criteria mutu mikrobiologi produk yang diekspor (Anonim, 2006).

Untuk meminimalisir kasus penolakan produk ekspor *frozen smoked tuna* akibat kontaminasi bakteri *Salmonella*, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui keberadaan bakteri *Salmonella* dan mioglobin (Mb) dalam *frozen smoked tuna*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis tingkat kesegaran ikan melalui uji Mb, pH, dan Organoleptik pada 3 jenis sampel (tuna *loin* segar, tuna *loin* beku, dan tuna *loin* beku yang diberi gas CO), menghitung pertumbuhan *Salmonella* dan Total Plate Count (TPC) pada 3 jenis sampel tersebut di atas, dan mendeskripsikan keberadaan *Salmonella* dan nilai Mb dengan pemberian gas CO.

MATERIAL DAN METODA

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado, dan di Laboratorium Balai Pengujian dan Sertifikasi Hasil Perikanan (BPSHP) Bitung. Percobaan dilakukan selama 3 bulan (November 2009 sampai dengan Januari 2010).

Objek Kajian dan Parameter yang dianalisis

Objek kajian dalam penelitian ini adalah isolat *Salmonella* BPSHP dan tingkat kesegaran *frozen smoked tuna*, dengan menganalisis kesegaran ikan (uji nilai Mb, pH, dan organoleptik), analisis *Total Plate Count* (TPC), dan total *Salmonella* pada tuna segar (sebagai kontrol positif), tuna beku, dan tuna beku yang diberi gas CO (*frozen smoked tuna*).

Penyiapan Sample dan Pengujian

Sample tuna segar (berbentuk *loin*) seberat 9 kg diambil dari PT. Nutrindo Fresfoods International (perusahaan perikanan di Kota Bitung,

Provinsi Sulawesi Utara). Sample tersebut, dengan menggunakan teknis *swabing*, dikontaminasikan dengan isolat *Salmonella* BPSHP dan dibuat tiga bagian (perlakuan), masing-masing bagian dibungkus dengan aluminium foil steril. Bagian pertama berupa *loin* segar, bagian kedua berupa *loin* segar dan dibekukan, bagian ketiga tuna *loin* segar diberi CO, diikuti dengan perlakuan *chilling* pada suhu 0-2 °C selama 48 jam, dan dibekukan sampai suhu pusat mencapai -18 °C. Ketiga bagian tersebut dibawa ke laboratorium dengan menggunakan *cool box* yang berisi es, untuk dilakukan pengujian (uji nilai mioglobin [Mb], uji pH, uji organoleptik, TPC, dan total *Salmonella*).

Pengujian nilai Mb menggunakan alat spektrofotometer. Nilai Mb dinyatakan dengan perbandingan antara pembacaan Optical Density (OD) pada panjang gelombang 540 nm dengan pembacaan OD pada panjang gelombang 503 nm (Suwetja, 2007). Pengukuran pH menggunakan alat pH meter merek "Hanna", dan uji organoleptik dilakukan berdasarkan SNI 01-2346-2006 yang dimodifikasi, dengan mengukur tingkat kesukaan konsumen menggunakan skala hedonik. Untuk analisis *Total Plate Count* (TPC) dan Total *Salmonella* dilakukan menurut Fardiaz (1993) yang telah dimodifikasi.

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara rata-rata terhadap nilai parameter uji, dengan penyajian data dalam bentuk gambar histogram. Selanjutnya secara deskriptif data hasil pengamatan dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk pH, organoleptik, Total Plate Count (TPC), dan total *Salmonella*. Sedangkan untuk nilai Mb dibandingkan dengan hasil penelitian Suwetja (2007). Data hasil pengamatan dan perhitungan untuk TPC dan total *Salmonella*, dianalisis berdasarkan sidik ragam, untuk mengetahui pengaruh kontaminasi *Salmonella* terhadap tuna segar, tuna beku dan tuna beku ditambah CO, kemudian dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Tingkat Kesegaran Ikan

Kesegaran ini diamati melalui pengujian nilai Mb, pH dan organoleptik. Tabel 1 menampilkan hasil analisis kesegaran ikan pada tuna *loin* segar, beku dan beku dengan CO. Nilai Mb tuna *loin* beku menurun sebesar 0,16 terhadap nilai Mb *loin* tuna segar, dan nilai Mb untuk tuna *loin* beku yang

Tabel 1. Hasil analisis rata-rata kesegaran tuna loin segar, beku, dan beku CO

Perlakuan	Hasil Rata-Rata (n= 3)		
	Nilai Mb	Ph	Organoleptik
Segar	1,02	5,23	7,55
Beku	0,86	6,10	7,35
Beku + Co	0,92	6,24	7,75

diberi gas CO menurun sebesar 0,01 terhadap nilai Mb loin tuna segar.

Hal ini menunjukkan bahwa pembekuan dapat mengurangi warna daging ikan sebesar 16%, sedangkan dengan pemberian gas CO hanya menurun sekitar 10%. Penambahan gas CO dapat memberi warna daging ikan seperti pada penambahan O₂ dimana Mb bereaksi dengan gas CO menghasilkan MbCO yang membentuk warna merah cerah, sama seperti ketika Mb bereaksi dengan O₂ (teroksigenasi) menjadi MbO₂ daging ikan berwarna merah cerah. Batas kesegaran ikan dengan uji Mb adalah warna ikan yang masih menunjukkan warna baik. Warna yang baik ini ditentukan oleh kandungan mioglobin (Mb) dan oksimioglobin (MbO₂) serta metmyoglobin (MMb). Menurut Bitto (1965) dalam Suwetja (1992), batas penerimaan ikan segar secara enzimatik yang didasarkan pada nilai Mb (absorbansi 540/503 nm) adalah sebesar 1,45 dan menurut Suwetja (1992 dan 1999), ikan yang digolongkan sangat segar atau untuk konsumsi sashimi memiliki nilai Mb $\geq 2,05$ dan ikan yang digolongkan segar atau baik untuk bahan mentah olahan memiliki nilai Mb $\geq 1,45$.

Data hasil analisis nilai pH (Tabel 1), menunjukkan bahwa proses pembekuan maupun pembekuan dengan gas CO, meningkatkan nilai pH sebesar 0,87 dan 1,01. Menurut Berhimpon (1982) dalam Suwetja (2007), nilai pH yang baik untuk ikan yang diawetkan termasuk ikan cakalang asap adalah antara 2,0-5,6 sedangkan 6,0-8,0 merupakan kisaran pH yang optimal bagi pertumbuhan mikroba pembusuk. Nilai pH untuk perlakuan pembekuan dan penambahan CO masih berada pada kisaran nilai pH yang optimal bagi pertumbuhan mikroba.

Rata-rata hasil penilaian organoleptik untuk tuna loin segar, tuna loin beku dan loin tuna beku dengan gas CO masing-masing : diantara menarik dan sangat menarik; menarik; serta sangat menarik. Nilai penampakan dari ikan tuna beku yang diberi gas CO lebih tinggi dibandingkan dengan tuna beku maupun tuna segar. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian gas CO pada tuna loin memberikan penampilan warna yang lebih menarik. Dari data hasil analisis rata-rata nilai organoleptik untuk

penampakan menunjukkan bahwa nilai organoleptik masih sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) yaitu nilai 7.

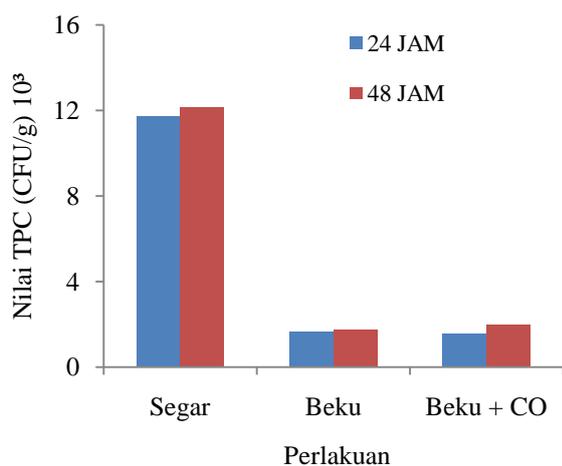
Analisis Total Plate Count (TPC) dan Total *Salmonella*

Gambar 1 menampilkan hasil perhitungan *Total Plate Count* (TPC) yang diperoleh dari hasil perhitungan jumlah bakteri (CFU/g) pada Nutrien Agar (pH 7,0) dengan suhu inkubasi 37°C selama 24 jam dan 48 jam.

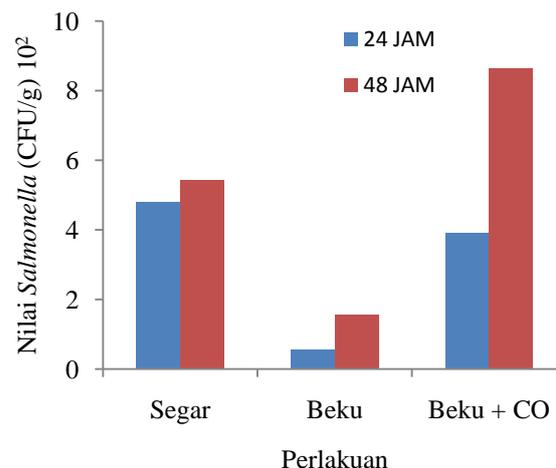
Data hasil analisis rata-rata TPC pada suhu 37°C selama inkubasi 24 jam dan 48 jam didapatkan bahwa jumlah TPC mengalami penurunan untuk tuna loin beku dan tuna loin beku yang diberi gas CO dibandingkan dengan loin ikan tuna segar. Kondisi total bakteri (TPC) tuna segar berbeda nyata bila dibandingkan dengan tuna beku dan tuna beku yang diberi gas CO baik yang diinkubasi pada suhu 24 jam maupun 48 jam, tetapi untuk tuna beku dengan tuna beku CO, tidak berbeda nyata. Hal ini ditegaskan oleh Hariadi (1994) bahwa pembekuan dapat menghambat pertumbuhan sebagian bakteri karena proses pembekuan mengubah cairan tubuh udang maupun produk perikanan lainnya menjadi kristal-kristal es yang bersuhu sangat rendah sehingga volume cairan sel bakteri menjadi besar dan akan memecahkan dinding sel bakteri.

Jumlah rata-rata TPC tuna loin segar, beku dan beku yang diberi gas CO masih memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) di mana persyaratan mutu menurut SNI untuk tuna beku secara mikrobiologis memiliki maksimum TPC yaitu $5,0 \times 10^5$ CFU/g (Anonymous, 1992). Hasil pengujian Total *salmonella* pada Bismuth Sulfite Agar (BSA) dengan pH 7,2 yang diinkubasi pada 37°C selama 24 jam dan 48 jam untuk loin ikan tuna segar, beku dengan diberi gas CO diperlihatkan pada Gambar 2. Hasil analisis rata-rata total *Salmonella* diperoleh untuk tuna loin segar total *salmonella* yang diinkubasi pada 37°C selama 24 jam dan 48 jam adalah $4,80 \times 10^2$ CFU/g dan $5,43 \times 10^2$ CFU/g untuk tuna loin beku $0,57 \times 10^2$ CFU/g dan $1,55 \times 10^2$ CFU/g, sedangkan untuk tuna loin beku diberi gas CO adalah $3,90 \times 10^2$ CFU/g dan $8,63 \times 10^2$ CFU/g.

Total *Salmonella* pada produk tuna beku baik yang diinkubasi selama 24 dan 48 jam jauh menurun bila dibandingkan dengan total *Salmonella* tuna loin segar, sedangkan pada tuna loin beku yang diberi gas CO hanya pada inkubasi 24 jam terjadi penurunan namun pada inkubasi 48 jam mengalami peningkatan yang cukup signifikan. Rendahnya nilai total *Salmonella* pada tuna beku dikarenakan



Gambar 1. Histogram rata-rata nilai *Total Plate Count* untuk loin tuna segar, tuna beku, dan tuna beku yang diberi gas CO.



Gambar 2. Histogram rata-rata nilai *Total Salmonella* untuk tuna loin segar, beku, dan beku yang diberi gas CO.

sampel langsung dibekukan sehingga perkembangan bakteri dapat dihentikan bahkan dapat membunuh bakteri tersebut. Selain itu kematian sel mikroba oleh proses pembekuan dapat disebabkan antara lain terbentuknya kristal es dari air bebas, meningkatnya viskositas di dalam sel, berkurangnya oksigen dan karbondioksida, perubahan pH, perubahan konsentrasi elektrolit sel, denaturasi protein sel, rangsangan akibat kejutan dingin, dan kerusakan metabolisme (Jay *et al.*, 2005). Total *Salmonella* pada loin tuna beku CO lebih tinggi dari total *Salmonella* pada loin tuna beku kemungkinan karena proses tuna loin beku CO ada tahap *chilling* pada suhu 0 sampai 2°C selama 2 x 24 jam sebelum dibekukan. Pada tahap ini dapat terjadi kontaminasi *Salmonella* karena penanganan yang salah atau terjadi perkembangbiakan bakteri. Menurut Buckle *et al.*, (1987), bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri dalam bahan pangan adalah faktor pengolahan menyangkut peralatan pengolahan dan faktor sanitasi dari para pekerja.

Ketahanan *Salmonella* pada suhu rendah menurut Supardi dan Sukamto (1999), bahwa *Salmonella* dapat tumbuh pada suhu 5°C – 47°C dengan suhu optimum 33 – 37°C dan ada beberapa sel dapat hidup selama penyimpanan beku. Hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Ijong (1993) tentang kelangsungan hidup beberapa bakteri patogen termasuk *Salmonella* yang diinokulasi pada ikan tuna dan disimpan pada suhu pendinginan 0°C dan pembekuan -25°C menyatakan bahwa *Salmonella* masih dapat bertahan hidup walaupun telah disimpan pada suhu -25°C selama 5 (lima) minggu, sementara perlakuan *cold-shock* pada suhu -25°C menurunkan total

Salmonella secara signifikan dari 10⁵ menjadi 10² CFU/g. Keberadaan *Salmonella* pada loin tuna segar, loin tuna beku maupun loin tuna beku yang diberi gas CO tidak berbeda nyata satu dengan lainnya.

Deskripsi Keberadaan *Salmonella* dan Nilai Mb Dengan Pemberian Gas CO

Berdasarkan hasil perhitungan, bila dibandingkan dengan tuna loin segar (sebagai kontrol), maka total *Salmonella* menurun pada tuna loin beku yang diberi gas CO pada suhu inkubasi 37 °C selama 24 jam dan pada inkubasi 48 jam, total *Salmonella* meningkat. Bila dibandingkan dengan tuna loin beku, maka total *salmonella* lebih tinggi pada tuna loin beku yang diberi gas CO. Sementara nilai Mb pada tuna loin beku yang diberi gas CO naik 6 % dari tuna loin beku. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian gas CO pada tuna loin dan dibekukan, tidak berbeda nyata dengan tuna beku tanpa diberi gas CO, tetapi pemberian gas CO dapat mempertahankan nilai Mb sehingga warna daging tuna nampak merah cerah (sangat menarik). Menurut Hardiana (2009), bahwa penyuntikan gas CO pada daging ikan dapat mengikat Mioglobin (Mb) dalam daging ikan sehingga terbentuk warna daging merah dan segar, sedangkan pemberian gas CO tidak mempengaruhi aktifitas *Salmonella*.

KESIMPULAN

- Tingkat kesegaran ikan diukur dari Nilai Mb pada loin tuna segar lebih baik dibandingkan dengan loin tuna beku; dengan pemberian CO

dapat mempertahankan nilai Mb. Nilai pH naik pada pembekuan maupun pemberian gas CO dan secara organoleptik, pemberian gas CO pada tuna *loin* memberikan efek penampakan warna yang sangat menarik.

- Total bakteri *Salmonella* menurun pada tuna *loin* beku baik yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam maupun 48 jam, sedangkan pada tuna *loin* yang diberi gas CO dan dibekukan penurunan terjadi pada inkubasi selama 24 jam tetapi meningkat pada inkubasi selama 48 jam. *Total Plate Count* (TPC) pada tuna *loin* beku dan tuna *loin* beku yang diberi gas CO yang diinkubasi pada suhu 37°C mengalami penurunan dibandingkan dengan TPC pada tuna segar.
- Pemberian gas CO dapat mempertahankan tingkat kecerahan warna daging ikan tetapi tidak mempengaruhi aktifitas *Salmonella* yang dikontaminasikan pada tuna *loin*.

Ucapan terima kasih. Penulis mengucapkan terima kasih kepada kepala Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan Universitas Sam Ratulangi Manado serta Balai Pengujian dan Sertifikasi Hasil Perikanan Sulawesi Utara yang sudah memberikan sarana laboratorium untuk dilakukan pengujian.

REFERENSI

- ANONIMUS (2006) *Standar Nasional Indonesia. Tuna Beku*. Bagian 1. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- ANONIMUS (2009) *Laporan Tahunan: Balai Pengujian dan Sertifikasi Hasil Perikanan*. Manado: Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Sulawesi Utara.
- ANONIMUS (2010) *Laporan Tahunan: Balai Pengujian dan Sertifikasi Hasil Perikanan*. Manado: Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Sulawesi Utara.
- BUCKLE, K.A., EDWARDS, R.A., FLEET, G.H. and WOOTON, M. (1987) *Ilmu Pangan*. Penerjemah Hari Punomo Adiono. Jakarta: UI Press.
- FARDIAZ, S. (1983) *Keamanan Pangan*. Jilid I. Bakteriologi Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- HARIADI, S. (1994) *Pengolahan Udang Beku*. Surabaya: Karya Anda.
- HARDIANA, P.K. (2009) *Evaluasi Risiko Semi-Quantitative Kadar Histamin Ikan Tuna Pada Proses Pembongkaran di Transit dan Pengolahan Produk Tuna Loin Beku*. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan.
- IJONG, F.G. (1993) *Survival of Some Pathogenic Bacteria Inoculate on to Tuna (Thunnus albacores) Meat in Low Temperature and The Attachment on Tuna Meat*. Thesis. Japan: Faculty of Applied Biological Science. Hiroshima University.
- SUPARDI, L. and SUKAMTO (1999) *Mikrobiologi dalam pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Penerbit Alumnus.
- SUWETJA, I K. (1992) *Metode Penentuan Mutu Ikan*. Jilid I. Penentuan Tingkat Kerusakan Pigmen, Kadar Urea dan Kadar Histamin. Manado: FPIK Unsrat.
- SUWETJA, I K. (1999) *ATP dan Mioglobin serta Perannya Sebagai Indeks Mutu Ikan*. Pidato Pengukuhan Guru Besar. Bidang Ilmu teknologi Hasil Perikanan. Manado: FPIK Unsrat.
- SUWETJA, I K. (2007) *Metode Penentuan Mutu Ikan* Jilid II. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- VERNAM, A.H. and EVANS, M.G. (1991) *Foodborn Pathogens*. An Illustration teks. USA: Mosby New Book. Inc.

Diterima: 5 Mei 2015
Disetujui: 20 Juni 2015