

# INAKTIVASI PANAS SPORA *BACILLUS CEREUS* PADA TAHU

## *THERMAL INACTIVATION OF BACILLUS CEREUS SPORES IN TOFU*

**Bara Yudhistira<sup>1)</sup>, Reny Mailia<sup>2)</sup>, Endang S. Rahayu<sup>3)</sup>, Yudi Pranoto<sup>4)</sup>, Saiful Rochdyanto<sup>5)</sup>**

1,2) Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret  
3,4,5) Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian,

Diserahkan [10 Agustus 2016]; Diterima [8 Oktober 2016]; Dipublikasi [25 Februari 2017]

---

### **ABSTRACT**

*As one of perishable food, tofu is susceptible for microorganisms contamination, an effort is needed to solve the problem. Heat treatment is one of the most common methods used to reduce microorganism population. This research aimed to analyze heat treatment effects of Bacillus cereus reduction in tofu. B. cereus isolate was obtained from soy milk cooking process during tofu production in Sudagaran Yogyakarta. D value measurement as parameter analysis was conducted at 80, 90, 100, 110, 120oC. The results showed that D90 value of B. cereus in tofu product was 29.41 minutes D120 value was 1.69 minute, while Z value was 33.33oC. D and Z value obtained was then used as pasteurization reference to extend shelf life of tofu. Pasteurization temperature of 95oC was based on household conventional boiling temperature, and the process time variations were 0, 10, 30 and 34 minutes. During tofu storage at 100C, analyses conducted were Total Plate Count, spore-forming bacteria, and B. cereus enumeration. Sensory parameter was also evaluated; including flavor, color, surface appearance, mucus presence, and texture. The longest shelf life 20 days was obtained by 34 minutes pasteurization and cool storage.*

**Keywords:** *tofu, Bacillus cereus, spore former bacteria, heat resistant*

### **ABSTRAK**

Tahu merupakan bahan pangan yang mudah rusak, terutama oleh cemaran mikroorganisme hal ini perlu upaya untuk penanganan masalah tersebut. Proses panas merupakan salah satu metode yang sering digunakan secara luas untuk menurunkan populasi mikroorganisme. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penanganan panas pada produk tahu khususnya untuk menurunkan spora Bacillus cereus. Isolat Bacillus cereus diperoleh dari proses pemasakan sari kedelai pada proses pembuatan tahu di Sudagaran Yogyakarta. Penentuan nilai D (reduction time) diperoleh dengan pemanasan pada suhu 80, 90, 100, 110, 120 oC. Nilai D spora Bacillus cereus pada produk tahu D90 29.41 menit sampai D120 1,69 menit sedangkan untuk nilai Z yang diperoleh berkisar 33,33 oC. Nilai D dan Z yang diperoleh kemudian menjadi dasar penentuan parameter proses pasteurisasi untuk memperpanjang umur simpan tahu. Proses pasteurisasi dilakukan pada suhu 95 oC sesuai dengan capaian suhu pada skala rumah tangga. Adapun waktu pasteurisasi yaitu 0, 10, 30, dan 34 menit, selain itu tahu pasteurisasi disimpan pada suhu dingin (10 oC). Selama penyimpanan dilakukan penghitungan total plate count, bakteri pembentuk spora serta jumlah Bacillus cereus. Selain itu dilakukan analisa sensori meliputi aroma, warna, kenampakan dari luar, kenampakan berlendir serta tekstur. Proses pasteurisasi 34 menit dengan penyimpanan dingin memiliki umur simpan yaitu lebih dari 20 hari.

**Kata kunci:** tahu, Bacillus cereus, bakteri pembentuk spora, ketahanan panas

### **PENDAHULUAN**

Tahu merupakan salah satu jenis makanan sumber protein nabati bagi masyarakat Indonesia. Tahu lazim dikonsumsi sebagai lauk atau makanan kecil maupun kudapan. Data Dinas Perindustrian DIY menunjukkan bahwa unit usaha tahu di

Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta mencapai 1.165 unit usaha dengan kapasitas produksi tahu sebesar 10.242.452 kg pertahun (Sari, 2008). Selain itu berdasarkan survei sosial ekonomi nasional (2013), menunjukkan bahwa konsumsi rata-rata per kapita tahu sebesar 7,039 kg. Jumlah

produsen tahu cukup banyak dan tingkat konsumsi tahu relatif tinggi, maka menjadikan tahu memiliki pangsa pasar cukup besar.

Produksi tahu di Indonesia pada umumnya masih dilakukan secara tradisional oleh masyarakat golongan menengah ke bawah. Dengan demikian proses pengolahan tahu tersebut belum sepenuhnya memperhatikan aspek kebersihan dan higienitas lingkungan produksi dan produk olahannya. Padahal faktor kebersihan dan higienitas tersebut menentukan kualitas produk olahan tahu. Tahu yang tidak bersih dapat disebabkan oleh kontaminasi khususnya oleh mikrobia yang berdampak pada kualitas tahu secara keseluruhan baik dari segi sensori maupun mikrobiologi. Pada umumnya umur simpan tahu hasil produksi unit usaha secara tradisional hanya berkisar 3-4 hari. Namun, beberapa waktu terakhir ada beberapa pedagang tahu yang menggunakan bahan pengawet berbahaya yang bukan untuk pangan seperti formalin dan boraks agar tahu menjadi awet atau tahan lama. Penggunaan bahan yang tidak untuk peruntukannya untuk pengawetan pangan seperti tahu tentu sangat membahayakan kesehatan konsumen, sebab bahan kimia tersebut selain bersifat karsinogenik juga dapat beracun dan dapat menyebabkan kematian. Pemecahan permasalahan ini tentu diperlukan cara untuk dapat mempertahankan kualitas tahu, agar tahu dapat dipasarkan dalam waktu lama tanpa mengalami perubahan kualitas yang signifikan dan dapat diterima serta aman bagi konsumen.

Usaha memperpanjang umur simpan tahu salah satu caranya adalah pasteurisasi. Pasteurisasi bertujuan untuk mematikan bakteri patogen maupun bakteri pembusuk yang dapat menyebabkan kerusakan tahu dengan perlakuan panas. Tahu hasil pasteurisasi tersebut selanjutnya dikombinasikan dengan kombinasi perlakuan penyimpanan dingin untuk menekan pertumbuhan bakteri. Dengan pasteurisasi dan penyimpanan dingin diharapkan dapat

mempertahankan mutu dan memperpanjang umur simpan tahu.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave*, *laminar flow*, *petridish*, *counter*, *micro pipet*.

### **Bahan**

Isolat dan bahan yang digunakan berasal pada proses produksi tahu dari industri tahu Bapak Budiyo Jalan Sudagaran TR 3/1027 RT 38 RW 10 Tegalrejo. Pengamatan dilakukan pada awal sampai akhir proses produksi tahu. Adapun sampel yang digunakan sebagai acuan pengukuran suhu proses yaitu air, proses perendaman, pemasakan, pengumpulan, kecutan, dan tahu. Isolat *Bacillus cereus mycoides* dan *B. cereus* ATCC 11778 dari Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada digunakan sebagai referensi isolat. Media yang digunakan yaitu PCA, BCA, aquades.

### **Tahapan Penelitian**

#### **Isolasi, Enemurasi, Identifikasi**

Sel Vegetatif *Bacillus cereus* diisolasi dari proses pembuatan tahu pada setiap tahapan proses dan dilakukan enemurasi yang selanjutnya dilakukan identifikasi dengan isolat referensi meliputi sifat biokimia dan morfologi serta pengecatan gram dan spora dari *Bacillus cereus*. Media Plate Count Agar (PCA) dan *Bacillus Cereus* Agar Base (BCA), digunakan sebagai media untuk enemurasi.

#### **Uji Ketahanan Panas**

##### **Ketahanan panas isolat.**

Labu elenmeyer yang telah diisi medium pemanas dalam hal ini susu kedelai dimasukan kedalam penangas minyak otomatis dengan pengatur suhu. Selanjutnya suhu didalam labu Erlenmeyer diukur menggunakan termometer steril. Kemudian labu Erlenmeyer yang telah dicemari spora

*B. cereus* dimasukan dengan waktu dan dalam suhu tertentu. Apabila telah sesuai dengan waktu yang telah ditentukan maka Erlenmeyer diangkat dan dimasukan kedalam wadah air dingin sampai suhunya mencapai suhu kamar. Apabila telah mencapai suhu kamar maka selanjutnya dapat dilakukan enemurasi. Adapun suhu yang digunakan yaitu 80, 90,100,110 dan 120°C dengan waktu pemanasan berkisar 0,1-90 menit baik untuk medium susu kedelai maupun medium tahu.

### **Persiapan suspensi inokulum dan Spora**

Isolat *B. cereus* yang digunakan yaitu berasal dari proses pemasakan (93-98°C) karena dengan suhu proses yang paling tinggi diantara proses yang lainnya. Isolat yang didapatkan selanjutnya diinokulasikan dan diidentifikasi sesuai *B. cereus* referens (*B. cereus* ATCC 11778), kemudian dibiakan untuk memproduksi spora. Produksi spora *B. cereus* menggunakan metode dari Siemer (2014), selanjutnya spora tersebut digunakan untuk penentuan uji ketahanan panas (nilai D dan Z).

Pada penentuan nilai D dengan medium sari kedelai spora awal yang digunakan yaitu  $2,8 \times 10^5$  CFU/g dimasukan kedalam sari kedelai, sedangkan pada medium tahu spora awal berjumlah  $1,0 \times 10^5$  CFU/g disemprotkan keseluruh bagian tahu seberat 100 gram.

Nilai D menunjukkan ketahanan spora atau sel vegetatif terhadap panas pada suhu tertentu sedangkan nilai Z adalah suhu yang diperlukan untuk menurunkan atau meningkatkan 1 siklus log nilai D.

### **Persiapan medium pemanas dan ketahanan panas spora**

Medium pemanas yang digunakan adalah sari kedelai sebagai habitat asli serta tahu yang merupakan produk akhir pada proses produksi tahu. Sari kedelai dimasukan kedalam tabung reaksi dengan volume 100 mL, sedangkan untuk tahu dengan ukuran 4x4x4 cm dengan berat 100 gram(de Jonghe

dkk., 2012), selanjutnya disterilkan pada suhu 115 0C. Medium yang telah steril kemudian dicemari dengan spora *Bacillus cereus* SK 4  $2,8 \times 10^5$  untuk sari kedelai dan  $1,0 \times 10^5$  CFU/g untuk medium tahu (isolat dari hasil isolasi penelitian sebelumnya yang paling tahan panas). Selanjutnya medium yang telah dicemari spora, dimasukan ke dalam penangas minyak dengan suhu dan waktu tertentu dan dilakukan penghitungan total *plate count*.

### **Perhitungan nilai D dan Z**

Nilai D dan nilai Z menunjukkan ketahanan panas bakteri *B. cereus* yang digunakan. Nilai D diperoleh dari penurunan jumlah bakteri dengan peningkatan suhu dan waktu. Selanjutnya nilai Z yang besar menunjukkan mikroorganisme mempunyai daya tahan pada rentang suhu yang besar, sedangkan untuk nilai Z yang kecil menunjukkan ketahan suhu pada rentang yang sempit.

Penentuan nilai D dihitung pada titik-titik untuk setiap penurunan 1 log10 dari jumlah mikroorganisme pada suhu dan waktu tertentu. Nilai D dihitung dengan rumus regresi liner:  $y = a+bx$  sedangkan untuk nilai Z diperoleh dengan memploting nilai D pada waktu tertentu, ditetapkan dengan rumus Nilai Z=  $-1/\text{slope}$ . Analisa dilakukan dengan MS-excell software.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Proses pembuatan tahu secara tradisional meliputi beberapa proses, diantaranya sortasi, perendaman, penggilingan, penyaringan, pemasakan, penggumpalan, pengepresan serta pemotongan sampai dengan penyimpanan tahu potong. Salah satu faktor yang mempengaruhi populasi mikroorganisme dalam setiap tahapan proses produksi tahu yaitu suhu dan pH. Semakin tinggi suhu proses dimungkinkan akan semakin kecil populasi mikroorganisme yang mampu tumbuh, begitupula sebaliknya dengan pH semakin tinggi semakin banyak jenis dan

jumlah populasi mikroorganisme yang mampu tumbuh. Adapun suhu dan pH dari masing-masing proses tersebut pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Suhu dan pH bahan pada proses pembuatan tahu

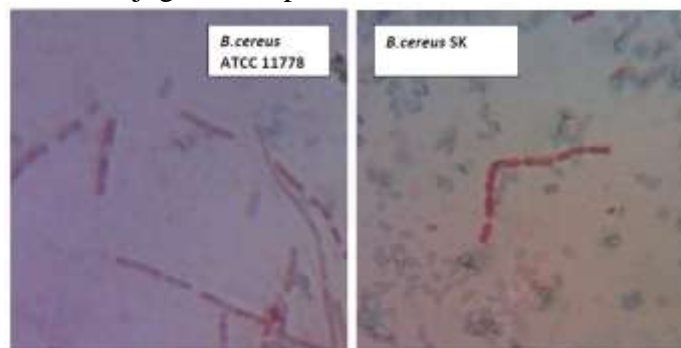
Bahan & proses produksi tahu	Suhu (°C)	pH
Air	25-27	6,5-7,3
Perendaman	28-30	6,5-7,2
Pemasakan	96-98	6,9-7,3
Penggumpalan	63-65	6,0-6,6
Kecutan	28-38	3,4-3,9
Tahu	25-35	4,5-5,3

Dari **Tabel 1** dapat diketahui bahwa suhu proses tertinggi yaitu pada proses pemasakan yaitu berkisar 96-98 °C dan pH tertinggi pada proses pemasakan pula. Proses pemasakan tersebut berlangsung sekitar 15-30 menit. *B. cereus* dapat membentuk spora dan dapat bertahan selama pemanasan seperti pasteurisasi. Spora bakteri juga cukup

resisten terhadap radiasi, sinar gama yang biasanya digunakan untuk mengurangi populasi mikrobia patogen. Spora *B. cereus* bersifat hidrofobik dan memiliki kemampuan untuk menempel pada permukaan bahan sehingga menyebabkan berbagai masalah terutama dalam produk susu. Sebagian besar *B. cereus* bersifat mesofilik tetapi beberapa strain dapat bersifat psikotropik maupun psikotoleran (tumbuh pada suhu 4-7°C). Beberapa strain juga dilaporkan dapat menggunakan laktosa sebagai media tumbuhnya (Kotiranta dkk., 2000).

Faktor selanjutnya yaitu pH (semakin asam medium pemanasan makin rendah resistensi panas) dalam Boudjema dkk. (2006) melaporkan *B. cereus* pada medium ekstrak wortel pH 5,2 dengan D90 selama 4 menit sedangkan pada medium dengan pH 4.0 mempunyai waktu yang lebih singkat yaitu dengan D90 selama 2,2 menit.

Isolat dari proses pemasakan yang mempunyai suhu paling tinggi selanjutnya dilakukan pewarnaan dan identifikasi (**Gambar 1**).



**Gambar 1** Isolat bakteri *B. cereus* dari sari kedelai dan strain *B. cereus* ATCC 11778

Dari hasil analisa biokimia diperoleh hasil sebagai berikut fermentasi glukosa positif, fermentasi manitol negatif, Sulfur negatif, indol positif, motil negatif, Nitrat broth negatif, voges prokuer positif. Selain itu **Gambar 1** menunjukkan morfologi hasil pengamatan mikroskop menunjukkan isolate yang didapatkan isolat dengan berwarna merah dengan letak spora ditengah-tengah atau subterminal dan berwarna hijau.

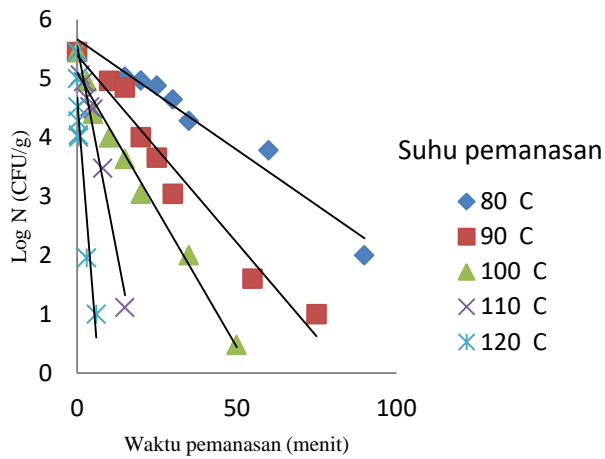
Spora dari isolat *B. cereus* yang didapatkan selanjutnya dilakukan analisa

ketahanan panasnya. Isolat tersebut dinamakan *B. cereus* SK.

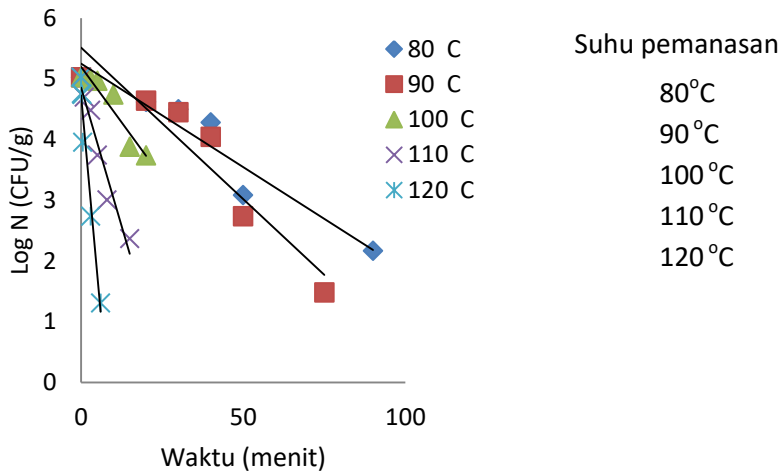
Analisa ketahanan panas spora *B. cereus* SK dilakukan pada medium sari kedelai (**Gambar 2**) sebagai habitat asli isolat tersebut dan pada medium tahu sebagai produk akhir. Sedangkan pada medium tahu pada **Gambar 3**.

Nilai D *B. cereus* SK pada medium yang berbeda terangkum pada **Tabel 2**. Pada medium yang berbeda selain menghasilkan nilai D dan Z yang berbeda. Nilai Z pada

masing-masing medium pada **Gambar 4** dan **Gambar 5**.



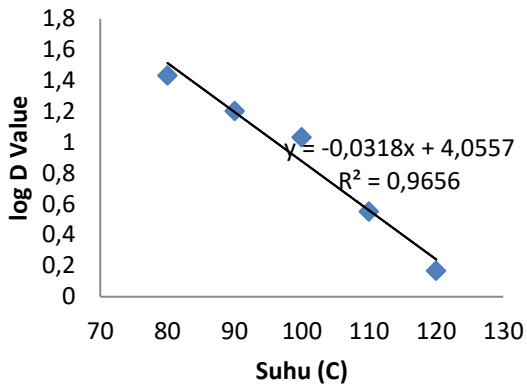
**Gambar 2.** Kurva ketahanan panas spora *B. cereus* SK pada medium sari kedelai



**Gambar 3** Kurva ketahanan panas spora *B. cereus* SK pada medium tahu

**Tabel 2.** Nilai D spora *B.cereus* SK pada sari kedelai dan tahu yang dipanaskan pada berbagai suhu

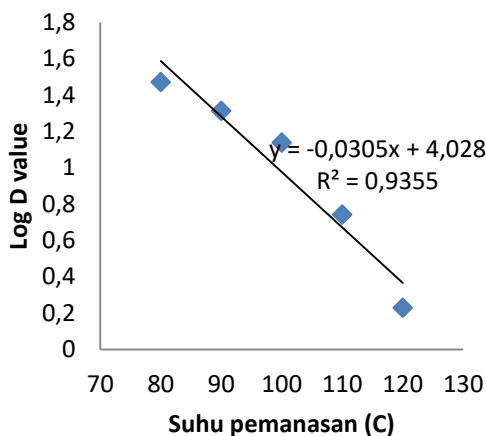
Suhu (°C)	D (menit)	
	Sari kedelai	Tahu
80	27,03	29,41
90	15,87	20,41
100	10,75	13,7
110	3,55	5,49
120	1,47	1,69



**Gambar 4.** Kurva Nilai Z Spora *B. cereus* SK pada medium sari kedelai

**Tabel 3.** Nilai Z spora *B.cereus* SK pada medium sari kedelai dan tahu

Bahan	Nilai Z (°C)
sari kedelai	32,36
Tahu	33,33



**Gambar 5.** Kurva nilai Z Spora *B. cereus* SK pada medium tahu

Perbedaan antara nilai D yang dilaporkan menurut Bryne dkk. (2005) mungkin disebabkan oleh: perbedaan strain; perbedaan komposisi medium pemanas (misalnya peningkatan kadar lemak, karbohidrat dan protein dalam medium pemanas sehingga meningkatkan resistensi termal) (Ababouch dkk., 1995; Oteiza dkk., 2003); pH (makin asam medium pemanas makin rendah resistensi panas) (Baril dkk., 2012); tekstur makanan (Leguerinel dkk., 2005) dan Aw (Gaillard, 1998).

Pada penelitian ini didapatkan bahwa D90 spora *B. cereus* SK sebesar 20.41 menit,

sedangkan Bryne dkk. (2005) melaporkan bahwa D90 spora *B. cereus* sebesar 10.10 menit pada medium semacam sosis (Pork Luncheon Roll), akan tetapi dalam penelitian tersebut menggunakan *B. cereus* strains DSM 4313 (isolate dari suatu keracunan makanan) and DSM 626 (digunakan pada penelitian sporulasi dan germinasi) yang disediakan dari DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikrobien und Zellkulturen, Braunschweig, Jerman). Perbedaan strain yang digunakan ini menyebabkan perbedaan ketahanan panas.

Kandungan proksimat sari kedelai dan tahu yang berbeda, memberikan pengaruh pada ketahanan panas spora *B. cereus* SK. Ababouch dkk. (1995) dan Oteiza dkk. (2003) melaporkan perbedaan komposisi medium pemanas (misalnya peningkatan kadar lemak, karbohidrat dan protein) dalam medium pemanas dapat meningkatkan resistensi termal. Dalam penelitian Ababouch dkk. (1995), spora i 5230 lebih resistan terhadap panas pada media minyak dibandingkan pada media larutan buffer, dimana medium minyak mengandung lemak yang cukup tinggi. Selain itu perbedaan pH medium berpengaruh pada nilai D pada sari kedelai dan tahu, dimana sari kedelai mempunyai kisaran pH 6,9-7,3 sedangkan untuk tahu agak sedikit lebih asam yaitu 4,5-5,3 karena sebelumnya telah mengalami pencampuran dengan kecutan yang bersifat sangat asam (pH 3.4-3.9). Dalam hal ini seharusnya tahu mempunyai nilai D yang lebih rendah dibandingkan sari kedelai, karena tahu memiliki pH yang lebih asam. Behringer dan Behringer dan Kessler (1992) melaporkan bahwa ketahanan panas maksimum umumnya terkait pada pH netral, dan pengasaman media dilaporkan menurunkan ketahanan panas dari spora genera *Bacillus*. Boudjemaa dkk. (2006) menambahkan *B. cereus* pada medium ekstrak wortel pH 5,2 dengan D90 selama 4,0 menit sedangkan pada medium dengan pH 4,0 memiliki nilai D yang lebih rendah yaitu D90 selama 2,2 menit. Peningkatan pH 6,0-8,1 pada media buffer sporulasi juga menyebabkan peningkatan yang signifikan dalam ketahanan panas spora *Bacillus cereus* (Mazas dkk., 1997).

Selanjutnya tahu yang sedikit asam, mengandung asam-asam organik dari kecutan saat koagulasi. Salah satu asam organik tersebut adalah asam asetat. Konsentrasi penghambatan terdisosiasi asam asetat adalah 0,02% terhadap *Salmonella* spp., 0,01% terhadap *Staphylococcus aureus*, 0,02% terhadap *Bacillus cereus*. Aksi penghambatan asam asetat dihasilkan

melalui penetralan gradient elektrokimia dari membran sel serta denaturasi protein dalam sel. Sedangkan asam propionat dalam kecutan efektif terhadap jamur dan bakteri tapi hampir tidak efektif terhadap yeast pada konsentrasi yang digunakan dalam makanan. Konsentrasi hambat asam propionat terdisosiasi adalah 0,05% terhadap jamur dan bakteri. Tindakan antimikroba dihasilkan melalui pengasaman sitoplasma serta destabilisasi gradien membran proton (Ray dan Sandine, 1992; Baird, 1980; Doors, 1993). Perbedaan tekstur pada medium sari kedelai dan tahu, mempengaruhi

Perbedaan nilai D dan nilai Z yang didapatkan, meskipun Leguerinel dkk. (2005) melaporkan bahwa faktor tekstur makanan hanya sedikit mempengaruhi sensibilitas nilai Z. Tahu dengan tekstur padat dimungkinkan sebagai tempat spora berlindung melalui penetrasi pada pori-porinya, selain itu pada saat pemanasan tahu cenderung lebih lambat untuk panas dibandingkan dengan sari kedelai sehingga hal ini dapat digunakan spora untuk beradaptasi.

## KESIMPULAN

Ketahanan panas spora *Bacillus cereus* SK4 (D90) pada medium sari kedelai dan tahu masing-masing 15,87 dan 20,41 menit. Sedangkan nilai Z medium sari kedelai dan tahu masing-masing 32,36 dan 33,33°C. Perbedaan medium memberikan perbedaan pada ketahanan spora *Bacillus cereus* SK4 meskipun dengan menggunakan strain yang sama.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ababouch, L.H., Gमित, L., Eddafry, R. dan Busta, F.F., 1995. Thermal inactivation kinetics of *Bacillus subtilis* spores suspended in buffer and in oils. *J. Appl. Bacteriol.* 78, 669–676.
- Anonim (European Food Safety Agency). 2005a. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on *Bacillus*

- cereus and other *Bacillus* spp. in Foodstuffs. *EFSA J.* 1–48.
- Baril, E., Coroller, L., Couvert, O., Leguerinel, I., Postollec, F., Boulais, C., Carlin, F dan Mafart, P., 2012. Modeling heat resistance of *Bacillus weihenstephanensis* and *Bacillus licheniformis* spores as function of sporulation temperature and pH. *Food Microbiol.* 30 (1):29–36.
- Baird-Parker, A.C. 1980. Organic acids, in *Microbial Ecology*, Silliker, J.H., Ed., Academic Press, New York, 1: 126.
- Behringer, R., dan Kessler, H. G. 1992. Influence of pH value and concentration of skimmed milk on heat resistance of *Bacillus licheniformis* and *B. stearothermophilum* spores. *Milchwissenschaft* 47(4): 207-211.
- Byrne, B. G. Dunne, D.J. Bolton. 2005. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. *Food Microbiology* 23: 803–808
- Doors, S. 1993. Organic acid, in *Antimicrobials in Foods*. Davidson, P.M. and Branen, A.L., Eds., Marcel Dekker, New York, p. 95.
- Gaillard, S, I. Leguerinel, dan P. Mafart. 1998. Model for Combined Effects of Temperature, pH and Water Activity on Thermal Inactivation of *Bacillus cereus* Spores. *JFood Sci:* 887, 63, 5
- IFST. 1993. Shelf life of foods: Guidelines for its determination and prediction. Institute of Food Science and Technology, London.
- Kotiranta, Anja, Kari Lounatmaa, dan Markus Haapasalo. 2000. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and Infection* 2: 189–198.
- Kim, D. H., dan Lee, K. S. 1992. Effects of coagulants on storage of packed tofu. *Korean Journal of Food Science and Technology* 24: 92–96. *Food Microbiology* 30: 29-36
- Leguerinel, I., Spegagne, I., Couvert, O., Gaillard, S., dan Mafart, P. 2005. Validation of an overall model describing the effect of three environmental factors on the apparent D-value of *Bacillus cereus* spores. *Int. J. Food Microbiol.* 100: 223–229.
- Mazas, M., Lopez, M., Gonzalez, I., Bernardo, A., dan Martin, R. 1997. Effects of sporulation pH on the heat resistance and the sporulation of *Bacillus cereus*. *Letters in Applied Microbiology* 25: 331-334.
- Oteiza, J.M., Giannuzzi, L., dan Califano, A.N. 2003. Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Escherichia coli* isolated from morcilla as affected by composition of the product. *Food Res. Int.* 36: 703–712.
- Rahayu, E. S, Siti Rahayu, Andika Sidar, Tri Purwadi, dan Saiful Rochdyanto. 2012. *Teknologi Proses Produksi Tahu*. Kanisius, Yogyakarta
- Ray, B. dan Sandine, W.E. 1992. Acetic, propionic and lactic acid of starter culture bacteria as biopreservatives, in *Food Biopreservatives of Microbial Origin*, Ray, B. and Daeschel, M.A., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, 1992, p 103.
- Sari, B.P. 2009. *Kualitas Mikrobiologi dan Potensi Bakteriosin untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri pada Tahu di Industri Rumah Tangga*. Skripsi Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Siemer, C., S, Toepfl, dan V, Heinz. 2014. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by pulsed electric fields (PEF) in combination with thermal energy II. Modeling thermal inactivation of *B. subtilis* spores during PEF processing in combination with thermal energy. *Food Control* 39: 244-250.



