KARAKTERISTIK PERTUMBUHAN DAN WAKTU GENERASI ISOLAT Azotobacter sp. DAN BAKTERI ENDOFITIK ASAL EKOSISTEM LAHAN SAWAH

(Growth Characteristic and Generation Time *Azotobacter* sp. And Isolate from Wetland Ecosystem)

Mieke Rochimi Setiawati¹, Pujawati Suryatmana¹, Diyan Herdiyantoro¹, dan Zahra Ilmiyati²

¹Staf Pengajar Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran ²Mahasiswi Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21, Jatinangor (45363), Jawa Barat Telp. 022-7797200, Fax. 022-7796316, e-mail: miekesetiawati@yahoo.com

ABSTRACT

Azotobacter sp. and N₂-fixation endophytic bacteria are microbes that play a role in fixation the N₂ from the free air and helps supply of N to plants and can make efficient use of N derived from inorganic fertilizer. N2-fixation microbes utilization in rice fields can reduce the cost of production of rice plants. By studying the characteristics of the two types of beneficial bacteria that is expected to be engineered to enhance the role of these bacteria contribute in supplying N to rice crops. The method used in this study is exploratory and observe the characteristics of growth and generation time of bacteria for 72 hours. The results of this study indicate that the bacterial isolates of Azotobacter sp-1 has the highest population in 48 hours with a total population of 1.58 x10⁷ cfu ml⁻¹, whereas bacteria Azotobacter sp-2 has the highest population in 60 hours with a total population of 3.12 x10⁶ cfu ml⁻¹. Both N₂-fixation endophytic bacteria populations reached the highest peak in the 60th hour with a total population of N₂-fixation endophytic bacteria-1 at 1.12 x 10⁸ cfu ml⁻¹ of N₂-fixation endophytic bacteria-2 of 9.4 x 10⁷ cfu ml⁻¹ of both isolates endophytic bacteria showed a similar growth pattern. Azotobacter sp. isolates from rhizosfir of the rice plant have a difference generation time, while the two isolates of N₂-fixation endophytic bacteria from tissue of rice plants having the same generation time. Isolates of Azotobacter sp.-1 had the fastest of generation time, capable of generating new cells every 158.66 minutes or every 2.64 hours.

Keywords: Azotobacter, N₂-fixation endophytic bacteria, Growth curve, Generation time

PENDAHULUAN

Nitrogen adalah unsur yang diperlukan tanaman untuk membentuk senyawa penting dalam sel. Tanaman mengambil kebutuhan Nitrogen dari dalam tanah dalam bentuk NH4 dan NO3. Sumber Nitrogen yang terdapat di dalam tanah, tidak selalu mencukupi kebutuhan tanaman, sehingga perlu diberikan pupuk anorganik yang merupakan sumber Nitrogen untuk meningkatkan produksi pertanian. Akan tetapi penggunaan pupuk anorganik dalam jangka panjang menimbulkan efek dapat membahayakan lingkungan.

Peran dan fungsi mikroba tanah juga menentukan berhasilnya keberlanjutan sistem produksi pertanian. Penambatan N_2 dari atmosfer oleh mikroba dapat membantu ketersediaan unsur N bagi tanaman dan dapat mengefisienkan penggunaan N yang berasal dari anorganik. Pemanfaatan pupuk mikroba penambat N2 ini juga akan mengurangi biaya produksi tanaman (Razie dan Syaifuddin, 2005).

Azotobacter sp. merupakan salah satu mikroba yang dikenal mampu menambat N_2 menghasilkan substansi zat pemacu tumbuh IAA, sitokinin, dan giberelin sehingga dapat memacu pertumbuhan akar (Alexander, 1977). Kemampuan Azotobacter menambat dalam N_2 menghasilkan zat pengatur tumbuh dapat memberikan keuntungan tersendiri. Selain meningkatkan ketersediaan N di dalam tanah yang akan meningkatkan produksi hasil, Azotobacter sp. juga tidak akan mencemari lingkungan.

Selain *Azotobacter* sp., penambatan nitrogen dari udara juga

diketahui dapat dilakukan oleh mikroba endofitik. Menurut Saraswati et al. (2004), bakteri endofit merupakan bakteri rizosfir yang mampu hidup dalam jaringan berfungsi tanaman (endofit). pertumbuhan memacu dan melindungi tanaman inangnya. Bakteri endofit hidup dalam jaringan tumbuhan suatu merugikan tanaman inangnya dan aktif dalam jaringan tersebut (Barac et al., 2004). Bakteri endofit yang memiliki kemampuan dalam melakukan penambatan Nitrogen biologis secara disebut dengan bakteri endofit diazotrof (Susilowati et al., 2007). Bakteri endofit terdapat berbagai macam pada jaringan tanaman, seperti bunga, batang, akar, dan biji atau buah pada berbagai tanaman (Kobayashi dan Palumbo, 2000 dalam Hung dan Annapurna, 2004).

Bakteri endofit memiliki banyak manfaat diantaranya dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan memproduksi fitohormon, meningkatkan produksi penyerapan fiksasi mineral, Nitrogen, mengurangi kerusakan akibat perubahan cuaca dan meningkatkan ketahanan tanaman dari penyakit (Zinniel etal.. 2002). molekuler terbaru tentang bakteri endofit memperlihatkeanekaragaman yang sangat besar dari spesies ini. Beberapa endofit terdapat dalam benih, tetapi lainnya, ada yang melalui proses kolonisasi pada tanaman. Bakteri ini dapat mengeluarkan senyawa protein untuk mempermudah dalam proses kolonisasi. Ekspresi gen tumbuhan menunjukkan bahwa. tumbuhan menyediakan tanda khusus untuk dapat dipengaruhi oleh bakteri

endofit (Rosenblueth dan Martínez-Romero, 2008).

Bakteri Endofitik Penambat N₂ dapat meningkatkan penambatan nitrogen dari udara. Pada tanaman tebu kultivar tertentu di Brazil yang dapat mengurangi setengah dari kebutuhan nitrogen melalui aktivitas penambatan N₂, yaitu lebih dari 150 kg ha⁻¹ tahun⁻¹ N (Boddey *et al.*, 1995). Peningkatan jumlah populasi bakteri endofitik penambat N₂ cenderung meningkatkan serapan N tanaman secara nyata. (Setiawati *et al.*, 2008).

Bakteri Azotobacter maupun bakteri endofitik penambat diduga mempunyai karakteristik pertumbuhan yang berbeda walaupun kedua bakteri tersebut mempunyai fungsi yang sama yaitu dapat menambat N2 dari udara bebas. Karakteristik yang menentukan aktivitas kedua bakteri tersebut adalah kurva pertumbuhan dan generasinya. waktu Fase pertumbuhan bakteri dapat dilihat dari kurva pertumbuhan bakteri. Disamping itu dapat diamati pula optimumnya. waktu tumbuh Perubahan kemiringan pada kurva, menunjukkan transisi dari satu fase perkembangan ke fase lainnya.

Menurut Sumarsih (2003) waktu generasi bakteri adalah waktu untuk diperlukan bakteri membelah sel nya dari satu sel menjadi dua sel anak dengan generasi sempurna. Waktu pada setiap bakteri tidak sama, ada yang hanya memerlukan 20 menit sampai berjam-jam atau berhari-hari. Dengan mempelajari karakteristik kedua bakteri yang bermanfaat ini diharapkan dapat direkayasa untuk meningkatkan peran bakteri tersebut berkontribusi dalam mensuplai N untuk tanaman padi sawah.

BAHAN DAN METODE

Bakteri Azotobacter diisolasi dari rhizosfir tanaman padi sedangkan dan bakteri sawah endofitik penambat N2 diisolasi dari jaringan akar, batang, dan daun tanaman padi yang tumbuh di lahan sawah di desa Cileles, Jatinangor, Kabupaten Sumedang. Media isolasi yang digunakan untuk mengisolasi bakteri Azotobacter adalah media Ashby cair dan padat, untuk bakteri endofitik digunakan media Triptic Soy Agar (TSA) dan JNFb semi solid. Media yang digunakan untuk mengamati waktu generasi kedua bakteri tersebut masing-masing digunakan media Ashby cair dan Triptic Soy Broth (TSB).

Karakteristik kedua jenis bakteri tersebut yang diamati dari pertumbuhannya. Pertumbuhan kedua bakteri diamati setiap 4 jam dan dibuat kurva pertumbuhannya. Populasi bakteri yang tumbuh selama proses penentuan kurva pertumbuhan dihitung dengan metode Total Plate Count (TPC). Waktu generasi bakteri dihitung dengan menggunakan rumus (Ni'matuzahroh, 2010):

$$G = \frac{t}{3,32 \left(\log b - \log a\right)}$$

Keterangan:

G = Waktu generasi

t = Interval waktu antara pengukuran jumlah sel awal (a) dan jumlah sel pada titik tertentu (b)

a = Populasi bakteri awal

b = Populasi bakteri setelah waktu

3.32 = faktor konversi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Pertumbuhan Bakteri

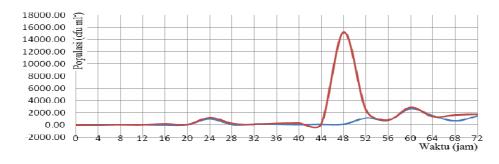
Hasil isolasi bakteri Azotobacter dari *rhizosfir* tanah sawah dihasilkan 3 isolat. Dua isolat yang mempunyai karakteristik yang sama sedangkan isolat yang ketiga berbeda sehingga diambil dua isolate diamati berbeda untuk vang karakteristik pertumbuhannya. Isolat Azotobacter pertama (Azotobacter sp.-1) mempunyai ciri koloni bundar, permukaan cembung mucoid, dengan tepian rata, berwarna putih bening. **Isolat** Azotobacter kedua (Azotobacter sp.-2) mempunyai ciri koloni bundar, permukaan cembung mucoid, dengan tepian berwarna bening kecoklatan.

Terdapat 6 isolat bakteri endofitik yang diisolasi dari akar, batang, dan daun tanaman padi tersebut sawah. Keenam isolat ditumbuhkan pada agar tegak media JNFb semi solid untuk menseleksi bakteri endofitik penambat dengan dicirikan terbentuk cincin putih di bawah permukaan media JNFb yang berwarna biru. Diperoleh dua isolat yang menunjukkan adanya cincin putih pada media JNFb. Isolat bakteri endofitik penambat pertama (1) berasal dari jaringan akar tanaman padi sawah mempunyai ciri koloni bundar, permukaan dengan tepian rata, berwarna putih

bening. Isolat bakteri endofitik penambat N₂ kedua (2) berasal dari jaringan daun tanaman padi sawah mempunyai ciri koloni oval, permukaan rata, dengan tepian rata, berwarna bening kekuningan.

Penentuan kurva pertumbuhan dilakukan untuk melihat fase pertumbuhan dari kedua jenis bakteri Azotobacter sp. dan endofitik penambat bakteri Perubahan kemiringan pada kurva yang terlihat, menunjukkan transisi dari satu fase perkembangan ke fase lainnya. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dipisahkan menjadi empat fase utama: fase lag (fase lamban), fase pertumbuhan eksponensial (fase pertumbuhan cepat), fase stationer (fase statis) dan fase decline (penurunan populasi). Fase-fase tersebut mencerminkan keadaan bakteri dalam kultur pada waktu Di antara setiap fase tertentu. terdapat suatu periode peralihan di mana waktu dapat berlalu sebelum semua sel memasuki fase yang baru.

Penentuan kurva pertumbuhan dilakukan yang memerlukan waktu hingga jam ke 72 dalam labu kultur yang diinkubasi pengocok pada alat dengan kecepatan 120 rpm. Pertumbuhan diukur dalam interval waktu setiap 4 jam dengan metode TPC di dalam petridish. Kurva pertumbuhan bakteri Azotobacter sp. (Gambar 1).



Azotobacter sp.-1: —— Azotobacter sp.-2: ——

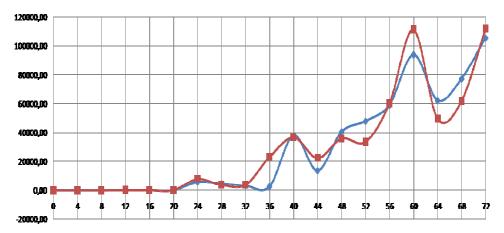
Gambar 1. Grafik pertumbuhan bakteri *Azotobacter* sp.-1 dan *Azotobacter* sp.-2 (x10³ cfu ml⁻¹)

Pratiwi (2008) menjelaskan bahwa pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor fisik dan faktor kimia. Faktor-faktor fisik mempengaruhi pertumbuhan bakteri, yaitu temperatur, tekanan osmosis, pH, oksigen, dan radiasi. Sedangkan faktor kimia yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, yaitu nutrisi dan media kultur. Perbedaan yang cukup besar pada jumlah populasi bakteri saat titik tumbuh optimum terjadi karena faktor genetik pada masing-masing bakteri. Genetik merupakan faktor intrinsik dalam suatu mikroorganisme yang tidak dapat dirubah karena setiap makhluk hidup pasti memiliki gen yang berbeda satu sama lain. Bakteri Azotobacter sp. dapat hidup pada pH 4,8-8,5 dengan pH optimum untuk pertumbuhan dan fiksasi nitrogen 7,0-7,5. Namun selama pertumbuhannya, aktivitas mikroba di dalam media dapat mempengaruhi kadar pH di dalamnya. Kadar pH di dalam media kultur juga dapat

meningkat akibat proses pembentukan ammonia dari unsur nitrogen yang tergandung dalam media.

Pada Gambar hasil pengamatan populasi bakteri endofitik penambat N2-1 dan bakteri endofitik penambat N₂-2 tiap 4 jam sekali selama tiga hari pada media pertumbuhan TSB memperlihatkan pola pertumbuhan yang hampir sama, tetapi sangat berbeda bila dibandingkan dengan pola pertumbuhan Azotobacter sp. (Gambar 1)

Dari Gambar 2 terlihat bahwa terdapat perbedaan pola kurva pertumbuhan pada bakteri endofitik penambat N₂-1 dan bakteri endofitik penambat N₂-2 pada tiap 4 jam terjadi fluktuasi. Populasi bakteri endofitik penambat N₂-1 dan bakteri endofitik penambat N₂-1 dan bakteri endofitik penambat N₂-2 mencapai puncak yang tertinggi pada jam ke-60, kedua bakteri endofitik kembali mencapai puncak tertinggi dan berulang lagi pada



Bakteri Endofitik Penambat N₂-1: — Bakteri Endofitik Penambat N₂-1:-

Gambar 2. Grafik Pertumbuhan bakteri endofitik penambat n₂-1 dan bakteri endofitik penambat N₂-2 (x10³ cfu ml⁻¹)

pengamatan jam ke-72. Oleh karena itu isolat kedua bakteri endofitik pada jam ke-60 setelah inkubasi pada media cair TSB dapat dipanen dan diaplikasikan ke tanaman padi. Populasi bakteri endofitik penambat N₂-1 pada jam ke-60 sebesar 1,12 x 10⁸ cfu ml⁻¹ lebih tinggi sebesar 18,62 % bila dibandingkan bakteri endofitik penambat N2-2 sebesar 9,4 x 10⁷ cfu ml⁻¹ pada jam yang sama.

Waktu Generasi Azotobacter sp. dan Bakteri Endofitik Penambat N_2

analisis Berdasarkan uji statistik yang sudah dilakukan, kedua bakteri isolat Azotobacter

mempunyai waktu generasi yang berbeda, sedangkan kedua isolat bakteri endofitik penambat N₂ mempunyai waktu generasi yang sama. Waktu generasi isolat bakteri endofitik penambat N₂ lebih lambat waktu dari pada generasi Azotobacter sp. Waktu generasi yang lebih tinggi pada tabel menunjukkan pertumbuhan yang lebih lambat, sedangkan waktu generasi yang lebih rendah menunjukan pertumbuhan bakteri yang lebih baik, karena angka vang lebih rendah menunjukan bakteri hanya memerlukan waktu yang lebih sedikit untuk membelah selnya menjadi 2x lipat.

Tabel 1. Waktu Generasi bakteri *Azotobacter* sp. dan bakteri endofitik penambat N₂

Nama Isolat	Waktu Generasi (menit/generasi)
A. Azotobacter sp-1	158,66 a
B. Azotobacter sp-2	234,33 b
C. Bakteri endofitik penambat N ₂ -1	255,00 c
D. Bakteri endofitik penambat N ₂ -2	263,00 c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5 %

Waktu generasi bakteri Azotobacter sp.-1 mempunyai pertumbuhan yang paling cepat di antara semua isolat yang dihasilkan dari ekosistem lahan sawah. Isolat Azotobacter sp.-1 mampu membelah menghasilkan sel baru setiap 158,66 menit atau setiap 2,64 jam sekali. Waktu generasi adalah waktu yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk meningkatkan jumlah menjadi dua kali lipat jumlah semula (Yudhabuntara, 2003). Kurva pertumbuhan mikroorganisme terdiri atas empat fase, yaitu fase penyesuaian (lag phase), fase eksponensial atau fase logaritmik, fase stasioner dan fase kematian. Pada fase eksponensial terjadi peningkatan iumlah sel digunakan untuk menentukan waktu generasi.

Waktu generasi tercepat pada setiap jenis bakteri berbeda hal ini terjadi karena sifat genetis yang dapat dipacu dengan mengkondisikan lingkungan yang optimum untuk bakteri tersebut. Kondisi lingkungan yang dimanipulasi untuk meningkatkan waktu generasi yaitu suhu, pH, dan nutrisi. Bakteri penambat N justru akan terhambat pertumbuhannya bila ada penambahan N pada media tumbuhnya terutama menghambat aktivitas kerja nitrogenase. Bila di dalam nutrisinya dilakukan pemberian P dan Mo dengan jumlah yang cukup, maka akan menyebabkan waktu generasi bakteri penambat N₂ meningkat.

Leigh (1995) menjelaskan bahwa unsur Fosfor dan Molibdenum merupakan faktor pembatas bagi aktivitas bakteri penambat N. Fosfor merupakan unsur yang berfungsi dalam proses transfer energi, suatu proses terpenting bagi pertumbuhan (Tisdale et al., 1985), sedangkan molibdenum merupakan komponen esensial yang diperlukan untuk metabolisme bakteri (Thiel et al., dalam Armiadi. 2002 2009). Pemberian fosfor dan molibdenum yang mempengaruhi kemasaman dan jumlah suplai N₂ pada media kultur akan mempengaruhi waktu generasi dari bakteri Azotobacter sp.

Keberadaan unsur fosfor dan molibdenum dalam media perbanyakan bakteri terlihat memberikan pengaruh pada waktu generasi dari bakteri Azotobacter sp. Metabolisme bakteri yang meningkat akibat pemberian unsur fosfor dan molibdenum yang membantu proses reduksi N₂ dan memproduksi NH₄

diduga menjadi salah satu faktor yang menentukan waktu generasi. Wibowo (2012) menjelaskan bahwa pertumbuhan koloni dan kecepatan pertumbuhan sebuah bakteri akan dibatasi oleh produk metabolit yang dihasilkan oleh mikroorganisme tersebut.

Kemasaman sebuah medium biakan merupakan faktor lain yang mempengaruhi kecepatan pertumbuhan bakteri. generasi Ni'matuzahroh (2011) menyatakan bahwa pH yang optimum merupakan salah satu faktor fisik yang harus dimiliki sebuah media kultur untuk menumbuhkan bakteri. Bakteri Azotobacter sp. memiliki рН optimum untuk melakukan pertumbuhan dan proses fiksasi nitrogen, yaitu pada pH 7,0-7,5 (Wibowo, 2012).

SIMPULAN

- 1. Isolat bakteri *Azotobacter* sp.-1 terlihat memiliki populasi tertinggi pada jam ke 48 dengan total populasi 1,58 x10⁷ cfu ml⁻¹, sedangkan bakteri *Azotobacter* sp.-2 memiliki populasi tertinggi pada jam ke 60 dengan total populasi 3,12 x10⁶ cfu ml⁻¹.
- 2. Kedua populasi bakteri endofitik penambat N₂ mencapai puncak yang tertinggi pada jam ke-60 dengan total populasi bakteri endofitik penambat N₂-1 sebesar $1,12 \times 10^8 \text{ cfu ml}^{-1}$ bakteri endofitik penambat N₂-2 sebesar 9.4×10^7 cfu ml⁻¹ kedua isolat endofitik bakteri tersebut memperlihatkan pola pertumbuhan yang hampir sama
- 3. Isolat bakteri *Azotobacter* sp. asal rhizosfir tanaman padi mempunyai waktu generasi yang berbeda, sedangkan kedua isolat

- bakteri endofitik penambat N_2 asal jaringan tanaman padi mempunyai waktu generasi yang sama.
- 4. Isolat *Azotobacter* sp.-1 mempunyai waktu generasi yang tercepat, mampu menghasilkan sel baru setiap 158,66 menit atau setiap 2,64 jam sekali.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan Terimakasih kami sampaikan kepada DITLITABMAS Ditjen Pendidikan Tinggi yang membiayai penelitian ini melalui skema penelitian STRANAS dengan nomor kontrak 1046/UN6.R/PL/2014 Tanggal 12 Mei 2014. Kepada yang membantu berbagai pihak kelancaran pelaksanaan kegiatan penelitian ini kami ucapkan terimakasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Armiadi. 2009. Peranan Unsur Hara Molibdenum dalam Penambatan Nitrogen. WARTAZOA. Vol. 19. Bogor.
- Barac, T., Taghavi, S., Borremans, B., Provoost, A., Oeyen, L., Colpaert, J.V., Vangronsveld, J., dan Lelie, D.V.D. 2004. Engineered Endophytic Bacteria Improve Phytoremediation of Water-Soluble, Volatile, Organic Pollutants. Nature Biotechnology Volume 22.
- Didi, R.S., R.D.M. Simanungkalit, S. Rasti, D.H. Ratih, dan H. Edi. 2006. Pupuk Organik dan Pupuk Hayati. Balai Besar

- Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor.
- Hung, P.Q., dan Annapurna, K. 2004. Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria in Soybean (*Glycine* sp.). Omonrice 12: 92-101.
- Jones, J.B., B. Wolf, and H. A. Mills. 1991. Plant Analysis Book a Practical Sample, Preparation, Analysis, and Interpretation Guide. Micro-Macro Publ. Inc. Georgia. 213 pp.
- Ni'matozahroh, 2010. Pertumbuhan Bakteri. Fakultas Sains dan teknologi, Universitas Airlangga Surabaya. Surabaya.
- Pratiwi, Sylvia, T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Erlangga. Jakarta.
- Razie, F., dan Syaifuddin. 2005.
 Potensi *Azotobacter* spp. dari
 Persawahan Lahan Pasang
 Surut Kalimantan Selatan:
 Kemampuannya Menambat
 Nitrogen dan Memasok N
 untuk Pertumbuhan Padi IR64. Agroscientiae. 12:106-133.
- Rosenblueth, M., dan Martínez-Romero, E. 2006. The American Phytopathological Society. MPMI. Vol. 19, No. 8:827–837.
- Saraswati, R., Prihatini, T., dan Hastuti, R.D. Teknologi Pupuk Mikroba untuk Meningkatkan Efisiensi Pemupukan dan Keberlanjutan Sistem Produksi Padi Sawah.http://balittanah.litban g.deptan.go.id/dokumentasi /buku/tanahsawah6.pdf. [Diakses 4 Maret 2013].
- Setiawati, M.R., Dedeh, H.A., Pujawati, S., dan Ridha, H.

- 2008. Formulasi Pupuk Hayati Bakteri Endofitik Penambat N₂ dan Aplikasinya untuk Meningkatkan Hasil Tanaman Padi. Penelitian Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Sumarsih, S., 2003. Mikrobiologi Dasar. Universitas Pembangunan Nasional Veteran, Yogyakarta.
- Susilowati, D. N., Saraswati R., Hasttuti, D., dan Yuniarti, E. 2007. Peningkatan Serapan N pada Kedelai yang Diinokulasi Bakteri Diazotrof Endofit di Medium Vermiculit. Indonesian Soil and Climate Journal.
- Tisdale, S.L and W.L Nelson, and J.D Beaton. 1985. Soil Fertility and Fertilizers. 4th ed. Collier Macmillan Company, New York. 754 p.
- Wibowo, MS. 2012. Pertumbuhan dan Kontrol Bakteri. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Yudhabuntara, D. 2003.
 Pengendalian Mikroorganisme dalam Bahan Makanan Asal Hewan. Fakultas Kedokteran Hewan, UGM. Yogyakarta.