



## Sintasan Spora *Bacillus cereus* selama Pengolahan dan Penyimpanan Rendang

[Survival of *Bacillus cereus* Spores during Processing and Storage of Rendang]

Maisharah Fadhina<sup>1)</sup>, Lilis Nuraida<sup>2,3)</sup>, dan Ratih Dewanti-Hariyadi<sup>2,3)\*</sup>

<sup>1)</sup> Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana, IPB University, Bogor, Indonesia

<sup>2)</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Bogor, Indonesia

<sup>3)</sup> South-East Asian Food Agricultural Science and Technology (SEAFST) Center, IPB University, Bogor, Indonesia

Received May 31<sup>st</sup> 2024 / Revised March 17<sup>th</sup> 2025 / Accepted May 26<sup>th</sup> 2025

### ABSTRACT

*Bacillus cereus* is a heat-resistant spore-forming bacterium that has been linked to outbreaks of foodborne illnesses. Rendang is a traditional Indonesian food made from beef heated in coconut milk and seasoning consisting of various kinds of spices (bumbu rendang) which is thought to inhibit germination of bacterial spores. This research aimed to determine the fate of *B. cereus* spores during heating and storage of rendang. Spores of *B. cereus* were inoculated into rendang mixture (beef, bumbu rendang, coconut milk) and control (beef and coconut milk) to achieve a spore concentration of 5 log CFU/g. Rendang mixture or control was heated for 6 h to produce rendang with water content of 35.77% (db) and  $a_w$  of 0.90. For storage study, rendang after heating was inoculated with 5 log CFU/g spores and stored at room temperature for 4 days. The number of total bacteria and spores was enumerated using total plate count (TPC) method. The number of *B. cereus* spores decreased during heating in rendang and control, but the decrease rate was slightly faster in rendang than that in control. At the end of heating, spores were reduced by 5 log cycles to <1 log CFU/g in rendang and control. The number of *B. cereus* spores in rendang and control decreased insignificantly during storage at room temperature. However, the total number of *B. cereus* in control showed an increase, suggesting possible germination, which was not observed in rendang. This research suggests that spices in bumbu rendang may contribute to inactivation of *B. cereus* spores during heating and inhibition of their germination during storage.

**Keywords:** *Bacillus cereus*, germination, rendang, survival, spores

### ABSTRAK

*Bacillus cereus* adalah bakteri pembentuk spora tahan panas yang telah dikaitkan dengan kejadian luar biasa (KLB) penyakit bawaan pangan. Rendang adalah makanan tradisional Indonesia, terbuat dari daging sapi yang dipanaskan dalam santan dengan bumbu. Bumbu yang terdiri dari berbagai macam rempah diyakini dapat menghambat germinasi spora bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan spora *B. cereus* dalam rendang selama pemanasan dan penyimpanan. Spora *B. cereus* diinokulasi ke dalam campuran rendang yaitu daging sapi, rempah-rempah, dan santan serta kontrol yaitu daging dan santan sehingga jumlah spora 5 log CFU/g. Campuran rendang maupun kontrol masing-masing dipanaskan selama 6 jam untuk menghasilkan rendang dengan kandungan air 35,77% (db) dan  $a_w$  0,90. Pada kajian penyimpanan, rendang dan kontrol pasca pemanasan diinokulasi dengan spora *B. cereus* 5 log CFU/g dan disimpan pada suhu ruang selama 4 hari. Jumlah sel dan spora dihitung menggunakan metode *total plate count* (TPC). Jumlah spora *B. cereus* rendang dan kontrol mengalami penurunan selama pemanasan, dengan laju penurunan sedikit lebih cepat pada rendang. Pada akhir pemanasan, spora berkurang 5 siklus log menjadi <1 log CFU/g baik pada kontrol maupun rendang. Jumlah spora *B. cereus* pada rendang dan kontrol menurun secara tidak signifikan selama penyimpanan, namun kemiringan penurunan *B. cereus* pada rendang sedikit lebih tajam dibandingkan kontrol. Selain itu, selama penyimpanan jumlah total *B. cereus* dalam kontrol mengalami peningkatan yang mengindikasikan kemungkinan germinasi yang tidak teramati dalam rendang. Penelitian ini menyimpulkan bahwa bumbu rendang berkontribusi dalam inaktivasi *B. cereus* selama pemanasan dan menghambat germinasi *B. cereus* selama penyimpanan rendang.

**Kata kunci:** *Bacillus cereus*, germinasi, rendang, rempah, spora

\*Penulis Korespondensi: E-mail: [ratihde@apps.ipb.ac.id](mailto:ratihde@apps.ipb.ac.id)

## PENDAHULUAN

Rendang merupakan salah satu pangan khas Sumatera Barat yang dibuat dari daging, santan, dan bumbu rendang yang terdiri dari beragam rempah-rempah. Rendang umumnya dipanaskan dalam waktu yang lama yakni 3–7 jam pada suhu 80–90 °C (Rini *et al.*, 2016; Faridah dan Holinesti, 2021). Ada tiga jenis makanan yang dihasilkan seiring dengan lamanya waktu pemasakan rendang, yaitu gulai (kuah encer dan kekuningan), kalio (kuah kental dan warna coklat), dan rendang (kuah kering dan warna coklat kehitaman) (Rini *et al.*, 2016). Pemanasan yang lama menyebabkan sebagian besar air menguap sehingga campuran santan dan bumbu rendang menyerupai pasta hitam yang gurih dan berminyak. Rendang merupakan pangan semi basah yang tahan lama karena mengandung air 10–40% dengan aktivitas air ( $a_w$ ) antara 0,6–0,85 (Prabhakar, 2014). Meskipun demikian, rendang telah dilaporkan menyebabkan keracunan pangan di Pontianak, Indonesia yang menyebabkan 44 orang mengalami sakit dan terkonfirmasi disebabkan oleh bakteri patogen pada tahun 2021 (BPOM, 2022).

Pemanasan pada pemasakan rendang umumnya ditujukan untuk menginaktivasi bakteri pembentuk spora. Tidak terpenuhinya kecukupan panas dapat menyebabkan rendang masih mengandung spora dari bakteri pembentuk spora yang dapat menyebabkan penyakit bawaan pangan seperti *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, atau *Bacillus cereus* sehingga berisiko terhadap kesehatan. Spora bakteri tahan terhadap proses pengolahan, khususnya perlakuan panas atau kondisi ekstrim yang dapat membunuh sel vegetatif bakteri (Gopal *et al.*, 2015). Spora yang bertahan dapat bergerminasi dan tumbuh pada produk selama proses pengolahan apabila kondisi mendukung pertumbuhan seperti kekurangan nutrisi, suhu tinggi, atau pH alkali (Rodrigo *et al.*, 2021). Germinasi dimulai ketika spora bakteri merasakan molekul kecil yang disebut germinan yang mencakup asam amino, monosakarida, nukleosida, garam, asam organik, dan garam empedu (Olguín-Araneda *et al.*, 2015). *B. cereus* merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit bawaan pangan yang menyebabkan sindrom diare dan emetik (muntah). Habitat alami *B. cereus* adalah tanah sehingga *B. cereus* dapat ditemukan pada bahan pangan mentah, olahan, maupun pangan siap santap berbasis susu (Meghwal *et al.* 2023), produk susu (Liu *et al.*, 2020), rempah (Fogele *et al.*, 2018; Nanteza *et al.*, 2022), daging (Milojevic *et al.*, 2019), sayur segar (Yu *et al.*, 2019), dan produk pangan lainnya.

Bumbu rendang terdiri dari rempah-rempah diantaranya bawang putih, bawang merah, jahe, lengkuas, dan cabai yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen. Akti-

vitasi antimikroba rempah terhadap spora *B. cereus* sudah banyak diteliti, diantaranya bawang putih menunjukkan efek antibakteri lebih baik dibandingkan cengkeh pada *B. cereus* (Kumar *et al.*, 2014) serta minyak esensial jahe merah dan lengkuas merah memiliki aktivitas antibakteri yang bersifat moderat terhadap *B. cereus* (Rialita *et al.*, 2015). Meskipun bersifat sebagai antibakteri, rempah-rempah juga termasuk salah satu bahan pangan yang sering terkontaminasi oleh spora *B. cereus*. Prevalensi *B. cereus* pada rempah-rempah di tingkat eceran adalah antara <3 MPN/g dan 1600 MPN/g (Hariram dan Labbé, 2016), pada lada sebanyak 90% (di pasar tradisional) dan 70% (di supermarket) di Bogor (Nanteza *et al.*, 2022).

Waktu pemanasan dan keberadaan bumbu rendang yang terdiri dari berbagai rempah diharapkan berpengaruh terhadap karakteristik fisik rendang (penampakan visual, kadar air, nilai  $a_w$ ) serta perilaku *Bacillus cereus*. Pemanasan yang cukup diharapkan mampu mengurangi sel vegetatif maupun spora *B. cereus*, sementara rempah-rempah diduga memiliki sinergis dalam inaktivasi *B. cereus* tersebut selama proses pengolahan dan penghambatan germinasi spora selama penyimpanan rendang pada suhu ruang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu pemanasan terhadap karakteristik rendang (penampakan visual, kadar air, nilai  $a_w$ ), serta pengaruh bumbu rendang terhadap kemampuan bertahan spora *B. cereus* selama pengolahan dan kemampuan germinasi spora *B. cereus* selama penyimpanan rendang pada suhu ruang.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan baku yang digunakan untuk pembuatan rendang daging mencakup daging (bagian *round* sapi) yang diperoleh dari Bank Daging Bogor, santan (2 liter santan per 5 butir kelapa) serta rempah-rempah (cabe merah, bawang merah, bawang putih, lengkuas, cabe rawit dan jahe), daun kunyit, daun jeruk, daun salam dan garam yang diperoleh dari pasar tradisional di Cibeureum Petir, Kabupaten Bogor. Bakteri uji adalah isolat lokal *B. cereus* WM-1SY yang diisolasi dari nasi (Rizki *et al.*, 2022). Media dan bahan kimia yang digunakan adalah *Brain Heart Infusion* (BHIB, Oxoid Ltd., Hampshire, UK.), media *Trypticase Soy Agar* (TSA Oxoid Ltd., UK), *Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin-Agar* (MYPA, Himedia M636), *Butterfield's Phosphate Buffered* (BPB), *Phosphate Buffer Saline* (PBS), dan *Polymyxin B Selective Supplement* (FD003, Himedia).

### Penetapan waktu pemanasan rendang

Rendang dibuat dengan mencampurkan satu kilogram daging, dua liter santan, dan 1246 g bumbu

rendang yang diperoleh dari resep salah satu Usaha Mikro Kecil dan Menengah (UMKM) di Payakumbuh (Rendang Yet), Sumatera Barat. Formula bahan pembuatan rendang dan kontrol disajikan pada Tabel 1. Pemanasan rendang dilakukan selama 4,5; 5,0; dan 6,0 jam, dihitung sejak awal pemasakan campuran santan, bumbu rempah, dan daging sampai dengan campuran berubah menjadi cokelat kehitaman. Sebagai kontrol, daging dan santan dipanaskan tanpa menggunakan rempah-rempah dengan waktu yang sama. Rendang yang dihasilkan dianalisis karakteristiknya yang meliputi penampakan visual, kadar air dengan metode oven menggunakan oven (OSK) dan timbangan analitik (Fujitsu FS - AR 210, Jepang), nilai  $a_w$  menggunakan  $a_w$  meter (Shibaura WA-360, Fukushima Shibaura Electronics co., Ltd. Jepang), nilai pH menggunakan pH meter (Horiba Laqua pH1100, Jepang) dan kadar abu metode gravimetri menggunakan tanur (Nabertherm) dan timbangan analitik. Analisis dilakukan berdasarkan metode *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012). Waktu pemanasan rendang dipilih berdasarkan penampakan visual, kadar air, nilai  $a_w$ , nilai pH, dan kadar abu yang paling mendekati ketetapan SNI rendang (BSN, 2009).

Tabel 1. Formula rendang  
Table 1. Rendang formula

| Bahan (Ingredient)            | Satuan (Units) |                   |
|-------------------------------|----------------|-------------------|
|                               | Rendang        | Kontrol (Control) |
| Daging sapi (Beef)            | 1000 g         | 1000 g            |
| Santan kelapa (Coconut milk)  | 2000 mL        | 2000 mL           |
| Bawang merah (Red onion)      | 500 g          | -                 |
| Bawang putih (Garlic)         | 120 g          | -                 |
| Daun salam (Bay leaves)       | 2 g            | -                 |
| Daun jeruk (Lime leaves)      | 2 g            | -                 |
| Daun kunyit (Turmeric leaves) | 5 g            | -                 |
| Serai (Lemongrass)            | 2 g            | -                 |
| Jahe (Ginger)                 | 75 g           | -                 |
| Lengkuas (Galangal)           | 200 g          | -                 |
| Cabai merah (Chili)           | 300 g          | -                 |
| Cabe rawit (Cayenne)          | 20 g           | -                 |
| Garam (Salt)                  | 20 g           | 20 g              |

#### Persiapan spora *Bacillus cereus*

Satu ose isolat *B. cereus* WM-1SY dari TSA miring diinokulasikan ke dalam 10 mL media BHIB dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam. Setelah inkubasi, kultur dioleskan pada seluruh permukaan cawan berisi media TSA dengan *cotton swab* steril. Cawan diinkubasi pada suhu 37 °C

selama 72 jam. Koloni dipanen menggunakan *cotton swab* steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL PBS steril, selanjutnya campuran tersebut dihomogenkan menggunakan vortex. Terhadap suspensi kultur dilakukan *heat shock* dengan menggunakan *waterbath* pada suhu 80 °C selama 10 menit untuk mematikan seluruh sel vegetatif sehingga jumlah awal spora *B. cereus* berkisar antara  $10^8$  CFU/mL. Suspensi spora *B. cereus* disimpan dalam *freezer* hingga digunakan kembali (modifikasi Novak *et al.*, 2005)

#### Perilaku spora *Bacillus cereus* selama pemanasan rendang

Spora *B. cereus* diinokulasikan ke dalam campuran daging, bumbu rendang, dan santan dengan perbandingan 1:1,2:2 sehingga jumlah awal spora adalah  $10^5$  CFU/g campuran bahan rendang. Campuran yang mengandung spora *B. cereus* tersebut dipanaskan dengan waktu pemanasan yang memberi penampakan visual dan kadar air serta  $a_w$  terendah yaitu selama 6 jam. Satu jam pertama pemanasan dilakukan dengan api normal sampai santan mendidih, kemudian dilanjutkan pemanasan dengan api sedang selama 5 jam. Suhu campuran daging, bumbu, dan santan dipertahankan berkisar antara 80–90 °C dengan mengatur api kompor. Sebagai kontrol, spora *B. cereus* juga diinokulasikan pada daging dan santan tanpa penambahan bumbu rendang dan dipanaskan dengan waktu yang sama.

#### Perilaku spora *Bacillus cereus* selama penyimpanan rendang

Spora *B. cereus* diinokulasikan pada campuran rendang dan kontrol yang sudah diolah sesuai prosedur, sehingga jumlah spora awal adalah  $10^5$  CFU/g. Rendang dan kontrol disimpan pada suhu ruang (27 °C) dan jumlah total bakteri dan spora *B. cereus* dianalisis pada hari ke-0, 1, 2, 3, dan 4 dengan metode *total plate count* (TPC).

#### Uji total bakteri (sel vegetatif dan spora) dan uji jumlah spora

Perhitungan total bakteri *B. cereus* (sel vegetatif dan spora) dilakukan dengan menimbang 25 g sampel rendang dan memasukkannya ke dalam 225 mL larutan pengencer BPB (pengenceran  $10^{-1}$ ), kemudian divortex untuk selanjutnya dibuat seri pengenceran. Sebanyak 1 mL sampel dari pengenceran sebelumnya diinokulasikan ke dalam 9 mL larutan pengencer BPB sampai tercapai tingkat pengenceran yang dibutuhkan. Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasikan suspensi 0,1 mL masing-masing pengenceran ke dalam cawan petri (pengerjaan duplo) yang sudah berisikan 13–15 mL MYPA. Suspensi kemudian diratakan pada permukaan media dengan menggunakan *hockey stick* steril hingga merata. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi dengan

posisi terbalik pada suhu 30 °C selama 24 jam (FDA, 2012).

Pengujian spora *B. cereus* dilakukan dengan memasukkan 25 g rendang atau kontrol ke dalam 225 mL larutan BPB (pengenceran 10<sup>-1</sup>) yang kemudian dihomogenkan dengan *stomacher*. Beberapa seri pengenceran dibuat dengan pengencer BPB sehingga mencapai tingkat pengenceran sesuai dengan yang dibutuhkan. Terhadap masing-masing pengenceran dilakukan *heat shock* selama 10 menit pada suhu 80 °C untuk mematikan sel vegetatif yang mungkin masih tersisa pada sampel untuk mendapatkan spora saja. Dari masing-masing pengenceran dilakukan pemupukan secara duplo dalam cawan petri dengan metode permukaan menggunakan media TSA. Cawan digoyang perlahan agar suspensi bakteri menyebar rata, setelah memadat cawan diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 30 °C selama 24 jam (Opstal *et al.*, 2004).

Perhitungan jumlah koloni *B. cereus* pada cawan setelah inkubasi adalah sesuai BAM yaitu berada di antara 15–150 koloni. Setiap koloni *B. cereus* dari seri pengenceran yang termasuk ke dalam rentang tersebut dihitung dengan menggunakan persamaan 1 (FDA, 2012). Jumlah koloni didapatkan dari koloni yang terhitung dari semua cawan dibagi dengan hasil perkalian jumlah cawan pada pengenceran pertama dan kedua serta dikali dengan faktor pengenceran dimana perhitungan pertama diperoleh.

Jumlah Koloni (CFU/g)=

$$\frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d} \dots\dots\dots (1)$$

#### Analisis pertumbuhan/kematian *Bacillus cereus* selama pemanasan dan penyimpanan rendang

Pembuatan kurva perubahan *B. cereus* selama pemanasan dan penyimpanan rendang dilakukan dengan mengkonversi nilai log dan memplotkannya pada kurva semilog dengan sumbu y menunjukkan koloni yang masih hidup setelah pemanasan (log CFU) dan sumbu x menunjukkan interval waktu (dalam jam) pada pemanasan rendang dan dalam (hari) selama penyimpanan rendang (Teixeira, 1997). Untuk mengetahui laju pertumbuhan/kematian *B. cereus* selama pemanasan dan penyimpanan rendang, data jumlah bakteri dan lama pemanasan atau lama penyimpanan dibuatkan kurva plot antara log jumlah mikroba setiap jam/hari dengan jumlah mikroba awal (log N<sub>t</sub>/N<sub>0</sub>) pada sumbu y dan sumbu x menunjukkan interval waktu (dalam jam/minggu). Kinetika inaktivasi/pertumbuhan mengikuti reaksi ordo 1 (persamaan 2) yang konstanta laju reaksinya (konstanta laju perubahan jumlah bakteri) didapatkan dari jumlah bakteri yang hidup dibagi dengan waktu (jam) pada pemanasan rendang dan waktu (hari)

selama penyimpanan rendang. Laju pertumbuhan/kematian *B. cereus* selama pemanasan dan penyimpanan rendang dan data jumlah bakteri yang diperoleh dengan menghitung nilai k dari *slope* kurva ( $y = kt/2,303$ ), k merupakan waktu dalam jam/minggu yang dibutuhkan untuk meningkatkan/menurunkan jumlah *B. cereus* sebesar 1 siklus log. *Slope* kurva didapatkan dengan menggunakan persamaan 3.

$$\frac{dN}{dt} = -KN \dots\dots\dots (2)$$

$$\ln \frac{N_t}{N_0} = -kt \dots\dots\dots (3)$$

$$\ln N_t = \ln N_0 - kt \dots\dots\dots (4)$$

$$\ln x = 2,303 \log x \dots\dots\dots (5)$$

$$\log N_t = \log N_0 - \frac{k}{2,303} t \dots\dots\dots (6)$$

Nilai *slope* 2,303/k, dinyatakan sebagai K (waktu penurunan desimal), sehingga:

$$\text{Log} \frac{N_t}{N_0} = -\frac{t}{K} \dots\dots\dots (7)$$

#### Pengamatan morfologi *B. cereus* setelah pemasakan rendang

Pengamatan bentuk morfologi spora *B. cereus* setelah pengolahan rendang dilakukan dengan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) (JSM-IT200, Jeol, Amerika Serikat). Sampel rendang dan kontrol terlebih dahulu dikeringbekukan menggunakan *freeze dryer* (Christ Alpha 2-4 LO plus, Jerman) lalu direkatkan pada spesimen *stub*. Permukaan sampel dilapisi dengan lapisan emas tipis (200 mesh) (IB-2, Eiko Engineering, Jepang). Sampel dimasukkan ke dalam alat SEM dengan tegangan 20 kV dan diamati permukaannya. Ukuran partikel pada SEM dilakukan dengan mengukur permukaan partikel secara diagonal dan vertikal sebanyak 4 kali (Dias *et al.*, 2014).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Waktu pemanasan rendang

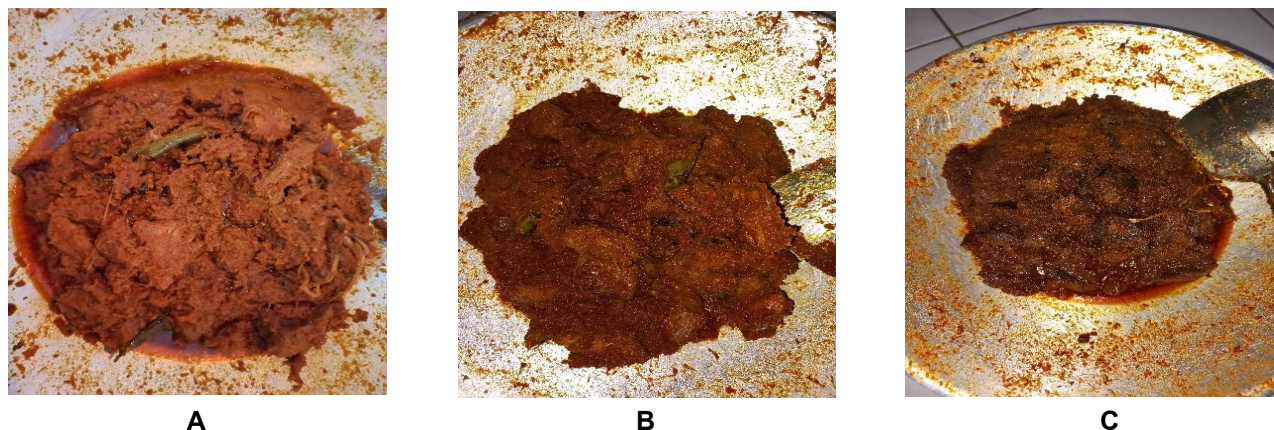
Rendang yang dihasilkan selama pemanasan 4,5; 5; dan 6 jam memiliki penampakan visual yang berbeda (Gambar 1). Rendang yang diharapkan adalah rendang dengan penampakan visual cokelat sam-pai dengan cokelat kehitaman dikarenakan proses memasak yang lama dan lambat sehingga menyebabkan karamelisasi alami dari gula yang ada dalam santan dan rempah-rempah. Campuran daging, santan, dan rempah berubah menjadi pasta hitam gurih yang memiliki cita rasa yang khas pada rendang.



Perbedaan waktu pemanasan memberikan hasil yang berbeda nyata pada kadar air, abu, dan nilai  $a_w$  namun tidak berbeda nyata pada nilai pH dari rendang yang dihasilkan. Rangkuman rerata nilai yang dihasilkan pada masing-masing parameter dapat dilihat pada Tabel 2.

Kadar air rendang dan kontrol terendah ditemukan pada waktu pemanasan 6 jam masing-masing sebesar 35,77% (bb) dan 4,48% (bb). Semakin lama waktu pemasakan rendang yang dilakukan maka kadar air rendang akan semakin menurun, hal ini

dikarenakan komponen air bebas yang terkandung di dalamnya akan banyak yang diuapkan. Hal ini sesuai dengan penelitian Ananda *et al.* (2017) yang menyatakan semakin lama waktu pemanasan pada bumbu betutu instan semakin banyak kadar air yang menu-run. Semakin tinggi suhu dan waktu yang digunakan untuk pemasakan, energi yang dikeluarkan oleh media pemanas juga akan semakin besar sehingga jumlah massa cairan yang menguap dari permukaan bahan pangan akan semakin besar (Asgar *et al.*, 2022).



Gambar 1. Penampakan visual rendang setelah pemanasan selama (A) 4,5 jam; (B) 5 jam; (C) 6 jam  
Figure 1. Visual appearance of rendang after heating for (A) 4.5 h; (B) 5 h; (C) 6 h

Tabel 2. Penampakan visual, kadar air, nilai  $a_w$ , nilai pH, dan kadar abu rendang  
Table 2. Visual appearance, water content,  $a_w$ , pH, and ash content of rendang

| Perlakuan<br>(Parameters)                  | Penampakan Visual<br>(Visual Appearance)                  | Kadar Air (%bb)<br>(Moisture Content (%wb)) | Nilai $a_w$<br>( $a_w$ Value) | Nilai pH<br>(pH Value) | Kadar Abu (%bk)<br>(Ash Content<br>(%db)) |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------|------------------------|-------------------------------------------|
| Rendang<br>(4,5 jam)<br>Rendang<br>(4.5 h) | Cokelat karamel<br>(Caramel brown)                        | 46.11±2.94 <sup>a</sup>                     | 0.92±0.00 <sup>a</sup>        | 5.83±0.08 <sup>a</sup> | 6.34±0.41 <sup>a</sup>                    |
| Rendang<br>(5 jam)<br>Rendang<br>(5 h)     | Cokelat agak<br>kehitaman<br>(Slightly blackish<br>brown) | 37.46±0.87 <sup>b</sup>                     | 0.90±0.00 <sup>b</sup>        | 5.72±0.05 <sup>a</sup> | 5.23±0.23 <sup>b</sup>                    |
| Rendang<br>(6 jam)<br>Rendang<br>(6 h)     | Cokelat kehitaman<br>(Blackish brown)                     | 35.77±0.28 <sup>b</sup>                     | 0.90±0.01 <sup>b</sup>        | 5.72±0.16 <sup>a</sup> | 5.41±0.20 <sup>b</sup>                    |
| Kontrol<br>(4,5 jam)<br>Control<br>(4.5 h) | Cokelat kehitaman<br>(Dark brown)                         | 27.32±1.58 <sup>c</sup>                     | 0.75±0.00 <sup>c</sup>        | 5.70±0.13 <sup>a</sup> | 6.36±0.41 <sup>a</sup>                    |
| Kontrol<br>(5 jam)<br>Control<br>(5 h)     | Hitam<br>(Black)                                          | 15.22±0.25 <sup>d</sup>                     | 0.67±0.02 <sup>d</sup>        | 5.48±0.34 <sup>a</sup> | 6.29±0.38 <sup>a</sup>                    |
| Kontrol<br>(6 jam)<br>Control<br>(6 h)     | Hitam<br>(Black)                                          | 4.48±0.29 <sup>e</sup>                      | 0.66±0.00 <sup>d</sup>        | 5.60±0.07 <sup>a</sup> | 6.17±0.36 <sup>a</sup>                    |

Keterangan: Data yang ditunjukkan merupakan nilai rata-rata ± standard deviasi, angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada selang kepercayaan 95%

Note: Values are means ± standard deviation of duplicate determination, numbers followed by different letters in the same column indicate a significant difference at a 95% confidence interval

Nilai  $a_w$  rendang dan kontrol paling rendah, yakni 0,90 dan 0,66, diperoleh dengan waktu pemasakan 6 jam. Nilai  $a_w$  rendang tersebut masih berada di bawah  $a_w$  minimum untuk pertumbuhan *B. cereus* yaitu 0,912 hingga 0,950 (Bottone, 2010). Nilai  $a_w$  dan kadar air rendang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan karena rendang mengandung berbagai macam rempah yang berkontribusi pada kadar air dibandingkan kontrol yang hanya terdiri dari santan dan daging saja sehingga lebih cepat menguap. Untuk mencapai  $a_w$  yang sama dengan kontrol, rendang memerlukan pemanasan yang lebih lama.

Rendang yang dipanaskan dengan waktu pemanasan yang berbeda memiliki nilai pH yang tidak berbeda banyak dan berkisar antara 5,48–5,83. Bahan pangan dengan nilai pH >4,6 dan  $a_w$  <0,85 termasuk ke dalam bahan pangan berasam rendah (BPOM, 2016) yang memerlukan pemanasan untuk menginaktivasi bakteri pembentuk spora seperti *B. cereus*, *C. perfringens*, dan *C. botulinum* ketika pangan dikemas hermetis dan disimpan pada suhu kamar. Bakteri patogen seperti *C. botulinum* bergerminasi dan menghasilkan toksin pada pH minimum 4,6 sedangkan *B. cereus* tumbuh pada kisaran pH yang luas dari 4,9–9,3 (Batt dan Patel, 2014; Johnson, 2019).

Lama waktu pemasakan rendang berpengaruh nyata terhadap kadar abu rendang yang dihasilkan. Pemrosesan suhu tinggi dapat menyebabkan mineral tertentu menguap sehingga menyebabkan penurunan kadar abu. Penelitian telah menunjukkan bahwa peningkatan suhu pengabuan dapat mengakibatkan berkurangnya kadar abu akibat penguapan mineral (Quirino *et al.*, 2023). Rendang memiliki kadar abu yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, kemungkinan disebabkan oleh rempah-rempah yang sebagian besar terdiri dari bahan organik (serat, karbohidrat, minyak atsiri) dapat menambah berat total tanpa secara signifikan meningkatkan kandungan mineral. Akibatnya, kadar abu relatif terhadap berat rendang menjadi lebih rendah dibandingkan kontrol. Meskipun rempah-rempah mengandung mineral, jumlahnya mungkin tidak cukup untuk meningkatkan kadar abu dibandingkan dengan berat total produk.

Waktu pemanasan 6 jam menghasilkan rendang dengan kadar air dan  $a_w$  terendah yaitu 35,77% dan 0,90 sehingga digunakan untuk tahapan penelitian selanjutnya. Dengan waktu pemasakan selama 6 jam juga dihasilkan rendang dengan penampakan visual sesuai SNI 7474 tahun 2009 yakni kering dan berwarna coklat kehitaman. Akan tetapi, rendang yang dihasilkan memiliki kadar air melebihi SNI (maksimal 20%) yang dapat menyebabkan produk memiliki umur simpan lebih pendek dan berisiko memberi kesempatan spora bakteri untuk bergerminasi.

### Perilaku *Bacillus cereus* selama pemanasan rendang

Pemanasan rendang maupun kontrol selama 6 jam memberikan dampak yang signifikan terhadap jumlah spora dan total bakteri *B. cereus*, serta adanya interaksi antara jenis perlakuan dan waktu pemanasan terhadap jumlah spora dan total *B. cereus* ( $p < 0,05$ ). Spora *B. cereus* (5,8 log CFU/g) dan kontrol (5,9 log CFU/g) di awal pemanasan lalu mengalami penurunan selama pemanasan sampai dengan <1,0 log CFU/g (Tabel 3). Semakin lama waktu pemanasan, jumlah spora dan total bakteri pada rendang maupun kontrol mengalami penurunan jumlah dikarenakan panas dapat membunuh mikroba dengan cara mendenaturasi protein, terutama enzim-enzim dan merusak membran sel (Chotyakul *et al.*, 2011). Suhu tinggi mengubah sifat asam nukleat, protein struktural, dan protein fungsional lainnya seperti enzim. Pemanasan akan meningkatkan suhu yang memungkinkan inaktivasi spora *B. cereus*. Suhu rendang selama pemanasan berkisar 80–90 °C, serupa dengan suhu pemasakan yang dilaporkan oleh Soni *et al.* (2016). Suhu tinggi (80–90 °C) dilaporkan dapat merusak sel *B. cereus*, suhu dan waktu yang meningkat dapat membantu inaktivasi pada spora *B. cereus* pada daging sapi (Soni *et al.* 2016). Juneja *et al.* (2018) melaporkan bahwa peningkatan suhu pemanasan menyebabkan penurunan log spora *B. cereus*, yakni sebanyak 1,52 log CFU/g pada suhu 95 °C dan sebanyak 2,98 log CFU/g pada suhu 99 °C selama waktu pemanasan 30 menit. Suhu rendang selama pemasakan yaitu 80–90 °C merupakan hasil pengamatan dalam penelitian ini.

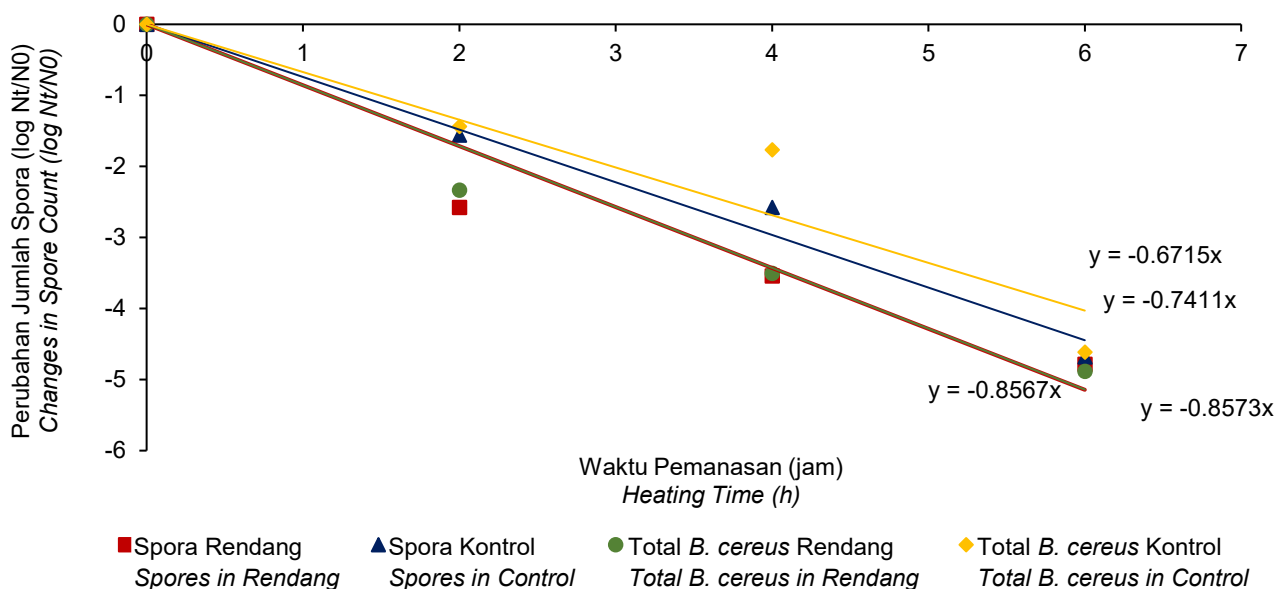
Hasil perhitungan nilai  $k$  dapat dilihat pada Tabel 4. Slope ( $y = -kt/2,303$ ) pada Tabel 4 menunjukkan laju penurunan/kematian *B. cereus* dengan nilai  $K$  spora dan total *B. cereus* pada rendang lebih kecil dibandingkan dengan nilai  $K$  spora dan total *B. cereus* pada kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa populasi *B. cereus* selama pemanasan rendang mengalami penurunan paling besar dan paling cepat pada sampel rendang (Gambar 2). Pengaruh waktu dan suhu yang serupa dalam inaktivasi spora *B. cereus* sudah dilaporkan oleh Evelyn dan Silva (2015) dan Soni *et al.* (2018). Penurunan lebih cepat terjadi pada sampel rendang baik pada jumlah spora maupun total *B. cereus* diduga disebabkan adanya bumbu rendang yang mengandung rempah-rempah. Rempah-rempah yang digunakan yaitu bawang merah, bawang putih, cabai, jahe, lengkuas, daun jeruk, daun salam, daun kunyit, dan serai secara individu telah dilaporkan mengandung komponen antibakteri yang berperan untuk membunuh bakteri sehingga penurunan jumlah *B. cereus* lebih cepat pada sampel rendang dibanding kontrol.

Tabel 3. Jumlah spora dan total *B. cereus* selama pemanasan rendang (log CFU/g)Table 3. The number of spores and total *B. cereus* during heating of rendang (log CFU/g)

| Pengamatan<br>(Observation)                                                                     | Sampel<br>(Sample)   | Waktu Pemanasan ke- (jam)<br>(Heating Time (h)) |                       |                        |                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
|                                                                                                 |                      | 0                                               | 2                     | 4                      | 6                      |
| Jumlah spora<br>(Number of spores)                                                              | Rendang<br>(Rendang) | 5.8±0.02 <sup>a</sup>                           | 3.2±0.17 <sup>d</sup> | 2.2±0.05 <sup>f</sup>  | <1.0±0.00 <sup>g</sup> |
|                                                                                                 | Kontrol<br>(Control) | 5.7±0.28 <sup>b</sup>                           | 4.1±0.03 <sup>c</sup> | 3.1±0.11 <sup>e</sup>  | <1.0±0.00 <sup>g</sup> |
| Total bakteri<br>(Sel vegetatif dan spora)<br>(Total bacteria<br>(Vegetative cells and spores)) | Rendang<br>(Rendang) | 5.9±0.04 <sup>a</sup>                           | 3.6±0.33 <sup>c</sup> | 2.4±0.43 <sup>d</sup>  | <1.0±0.00 <sup>e</sup> |
|                                                                                                 | Kontrol<br>(Control) | 5.6±0.24 <sup>a</sup>                           | 4.2±0.04 <sup>b</sup> | 3.9±0.04 <sup>bc</sup> | <1.0±0.00 <sup>e</sup> |

Keterangan: Data yang ditunjukkan merupakan nilai rata-rata ± standard deviasi, angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada selang kepercayaan 95%

Note: Values are means ± standar deviation of duplicate determination, numbers followed by different letters indicate a significant difference at a 95% confidence interval



Gambar 2. Kurva perubahan jumlah spora dan total *B. cereus* selama pemanasan rendang  
Figure 2. Survival curve of spore and total *B. cereus* during heating of rendang

Tabel 4. Laju penurunan/kematian *B. cereus* selama pemanasan rendangTable 4. Rate of decline/death of *B. cereus* during heating

| Pengamatan<br>(Observation)                                                                                   | Slope (-k/2,303)*<br>(Slope (-k/2,303)*) | Nilai K=1/slope (jam)<br>K Value=1/slope (h) |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Spore dalam rendang (Spores in rendang)                                                                       | -0.856                                   | 1.168                                        |
| Spore dalam kontrol (Spores in control)                                                                       | -0.671                                   | 1.490                                        |
| Total bakteri (vegetatif dan spora) dalam rendang<br>(Total bacteria (vegetative cells and spore in rendang)) | -0.857                                   | 1.166                                        |
| Total bakteri (vegetatif dan spora) dalam kontrol<br>(Total bacteria (vegetative cells and spore in control)) | -0.741                                   | 1.349                                        |

Keterangan: \*Slope negatif menunjukkan penurunan/kematian *B. cereus*

Note: \*Negative slope indicates the declining/death of *B. cereus*

Komponen antibakteri yang bekerja seperti *capsaicin* pada cabai yang memiliki aktivitas antimikroba pada *Bacillus subtilis*, *essential oil* pada lengkuas yang memiliki aktivitas antimikroba pada *B.*

*subtilis*, dan ekstrak bawang putih yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. cereus* (Shrestha et al., 2016; Oyedemi et al., 2019; Tian et al., 2022).

### Perilaku *Bacillus cereus* selama penyimpanan rendang pada suhu ruang

Secara statistik, jenis perlakuan memberikan efek yang tidak signifikan terhadap spora *B. cereus* selama penyimpanan rendang ( $p>0,05$ ), rempah tidak berpengaruh terhadap jumlah spora selama penyimpanan rendang. Lama penyimpanan memberikan efek yang signifikan terhadap jumlah spora dan adanya interaksi antara jenis perlakuan dan lama penyimpanan terhadap jumlah spora *B. cereus* ( $p<0,05$ ). Jumlah spora hari ke-0 pada rendang dan kontrol berturut-turut 5,8 log CFU/g dan 5,5 log CFU/g (Tabel 5).

Semakin lama penyimpanan, jumlah spora mengalami sedikit penurunan dan setelah penyimpanan selama 4 hari jumlah spora dalam rendang turun menjadi 5,1 log CFU/g sementara dalam kontrol menjadi 5,2 log CFU/g. Jumlah spora selama penyimpanan rendang mengalami penurunan sangat sedikit dan jumlahnya hampir sama dari jumlah awal inokulasi spora yaitu 5 log CFU/g. Kemungkinan terjadinya germinasi sangat sedikit dikarenakan spora yang diinokulasikan pada rendang yang sudah diolah sebelumnya tidak cukup mendapatkan panas dan lingkungan yang mendukung untuk spora dapat bergerminasi.

Secara umum spora *B. cereus* membutuhkan perlakuan panas (faktor germinasi). Hal ini sesuai dengan penelitian Navaneethan dan Effarizah (2023) yang menemukan spora yang bergerminasi dengan laju pertumbuhan 0,11–0,60 per jam setelah pemasakan nasi selama 15 menit kemudian didinginkan dan disimpan pada suhu 25 dan 30 °C. Kondisi lingkungan pada rendang dan kontrol juga tidak mendukung untuk spora bergerminasi,  $a_w$  rendang dan kontrol sebesar 0,90 dan 0,60. Untuk germinasi, spora *Bacillus* membutuhkan  $a_w$  berkisar antara 0,941–0,944 (Carlin *et al.*, 2013).

Laju perubahan *B. cereus* selama penyimpanan rendang disampaikan pada Gambar 3 dan hasil perhitungan nilai  $k$  dapat dilihat pada Tabel 6. *Slope* ( $y = -kt/2,303$ ) total *B. cereus* relatif stabil pada kontrol. *Slope* kurva spora pada kedua perlakuan (rendang dan kontrol) serta total *Bacillus* pada rendang menunjukkan penurunan/kematian *B. cereus*. Nilai  $K$  pada rendang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol, hal ini menunjukkan bahwa populasi *B. cereus* selama penyimpanan mengalami penurunan paling besar dan lebih cepat pada rendang dibandingkan dengan kontrol.

Pada kontrol terjadi peningkatan jumlah total *B. cereus*, sementara jumlah spora *B. cereus* mengalami penurunan. Total *B. cereus* dan spora *B. cereus* pada rendang mengalami penurunan dengan laju penurunan yang lebih cepat terjadi pada sporanya.

Nilai  $K$  pada rendang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol, populasi *B. cereus* selama penyimpanan mengalami penurunan paling besar dan lebih cepat yaitu pada rendang. Secara umum spora *B. cereus* membutuhkan perlakuan panas yang kemudian dilanjutkan dengan proses pendinginan yang lambat untuk bergerminasi (Houška *et al.*, 2007). Soni *et al.* (2018) melaporkan spora yang diinokulasikan bergerminasi pada penyimpanan suhu 25 °C dari 4,9 log CFU/g spora pada hari ke-0 menjadi 3,7 log CFU/g dan terjadi penurunan total sel sebanyak 4,9 Log CFU/g menjadi 5,7 log CFU/g pada hari ke-4 setelah dipanaskan selama 30 menit pada suhu 70 °C (Soni *et al.*, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa sebelum germinasi, spora mengalami perlakuan tertentu untuk bergerminasi diantaranya perlakuan panas sehingga pada penelitian ini jumlah spora pada rendang dan kontrol selama penyimpanan tidak mengalami germinasi dikarenakan tidak terkena perlakuan yang menyebabkan spora bergerminasi. Perlakuan lain yang dapat memicu spora bergerminasi diantaranya adalah pemberian inosin dan *L-alanine* sebagai senyawa germinan yang dapat memicu germinasi sampai dengan 99,98% (Kwon *et al.*, 2022).

Pada kontrol, setelah penyimpanan 4 hari tidak ada germinasi spora yang diamati karena jumlah spora dan bakteri total (spora dan sel vegetatif) hampir sama yaitu 5,1 log CFU/g pada rendang dan 5,2 log CFU/g pada kontrol. Kemiringan kurva pada rendang hanya sedikit lebih curam dibandingkan kurva kontrol, tetapi jumlah total *B. cereus* pada kontrol menunjukkan jumlah lebih besar yang mengindikasikan terjadinya germinasi spora. Hal ini tidak teramati pada rendang yang diduga disebabkan karena adanya bumbu rendang yang menghambat germinasi spora selama penyimpanan.

### Morfologi *Bacillus cereus* setelah pemanasan rendang

Pengamatan morfologi spora *B. cereus* setelah pemanasan rendang bertujuan untuk mengamati perubahan morfologi spora *B. cereus* setelah proses pemasakan rendang. Proses pemasakan rendang menyebabkan perubahan pada struktur *B. cereus* yang ditandai dengan rusaknya matriks ekstraseluler sehingga tampak sedikit bahkan tidak tersisa penampakan sel pada rendang (Gambar 4A). Setelah 6 jam pemanasan spora *B. cereus* sudah banyak yang hilang dan sangat sedikit yang tertinggal akibat dari proses pemanasan rendang. Spora *B. cereus* yang dipanaskan dalam kontrol yaitu daging dengan santan tanpa ada bumbu rempah juga mengalami kerusakan matriks ekstraseluler namun tidak terpisah pada medium rendang. Pada kontrol (Gambar 4B) terlihat masih ada penampakan *B. cereus*.

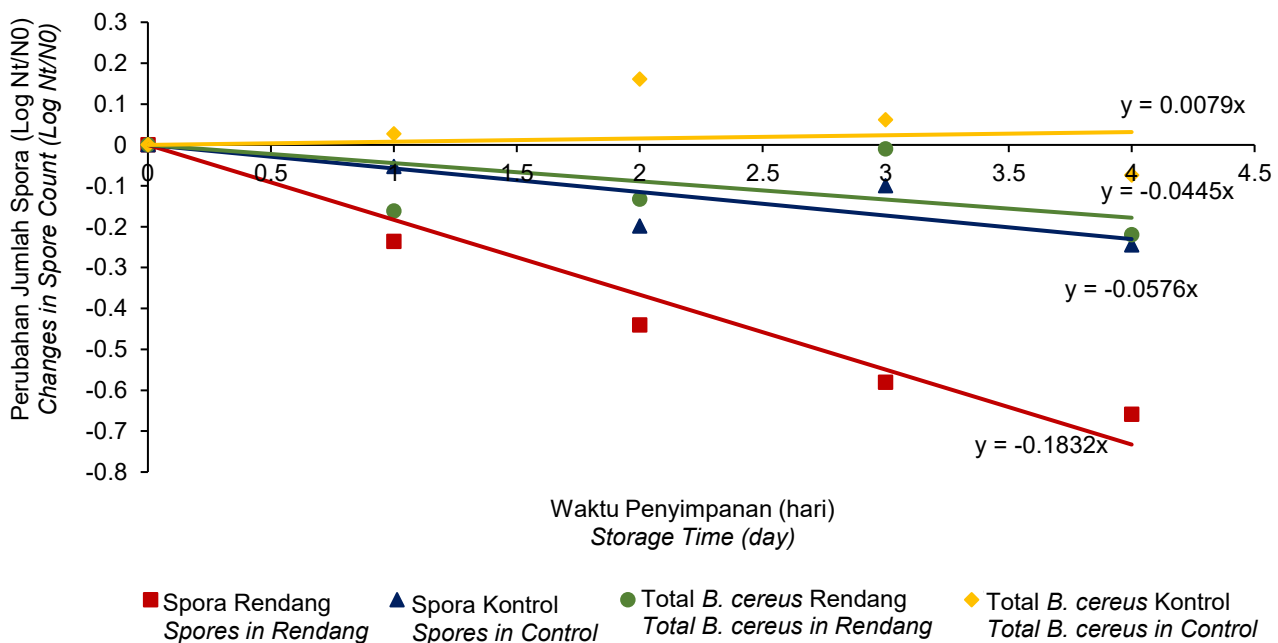


Tabel 5. Jumlah spora dan total *B. cereus* (log CFU/g) dalam rendang selama penyimpanan suhu ruang  
 Table 5. Number of spores and total cells of *B. cereus* (log CFU/g) during room temperature storage

| Pengamatan<br>(Observation)                                                                   | Sampel<br>(Sample)   | Waktu Penyimpanan ke- (hari)<br>(Storage Time (days)) |                         |                          |                          |                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
|                                                                                               |                      | 0                                                     | 1                       | 2                        | 3                        | 4                       |
| Jumlah spora<br>(Number of spores)                                                            | Rendang<br>(Rendang) | 5.8±0.13 <sup>a</sup>                                 | 5.5±0.02 <sup>b</sup>   | 5.3±0.09 <sup>bcde</sup> | 5.2±0.14 <sup>ef</sup>   | 5.1±0.08 <sup>g</sup>   |
|                                                                                               | Kontrol<br>(Control) | 5.5±0.07 <sup>bc</sup>                                | 5.4±0.08 <sup>bcd</sup> | 5.3±0.15 <sup>bcde</sup> | 5.4±0.05 <sup>cdef</sup> | 5.2±0.20 <sup>def</sup> |
| Total bakteri (Vegetatif<br>dan spora)<br>(Total bacteria<br>(Vegetative cells and<br>spore)) | Rendang<br>(Rendang) | 5.5±0.16 <sup>abcd</sup>                              | 5.4±0.12 <sup>d</sup>   | 5.4±0.14 <sup>cd</sup>   | 5.5±0.07 <sup>bcd</sup>  | 5.3±0.07 <sup>d</sup>   |
|                                                                                               | Kontrol<br>(Control) | 5.6±0.07 <sup>abc</sup>                               | 5.6±0.07 <sup>abc</sup> | 5.8±0.03 <sup>a</sup>    | 5.7±0.06 <sup>ab</sup>   | 5.5±0.14 <sup>ab</sup>  |

Keterangan: Data yang ditunjukkan merupakan nilai rata-rata ± standar deviasi, angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada selang kepercayaan 95%

Note: Values are means ± standard deviation of duplicate determination, Numbers followed by different letters indicate a significant difference at a 95% confidence interval



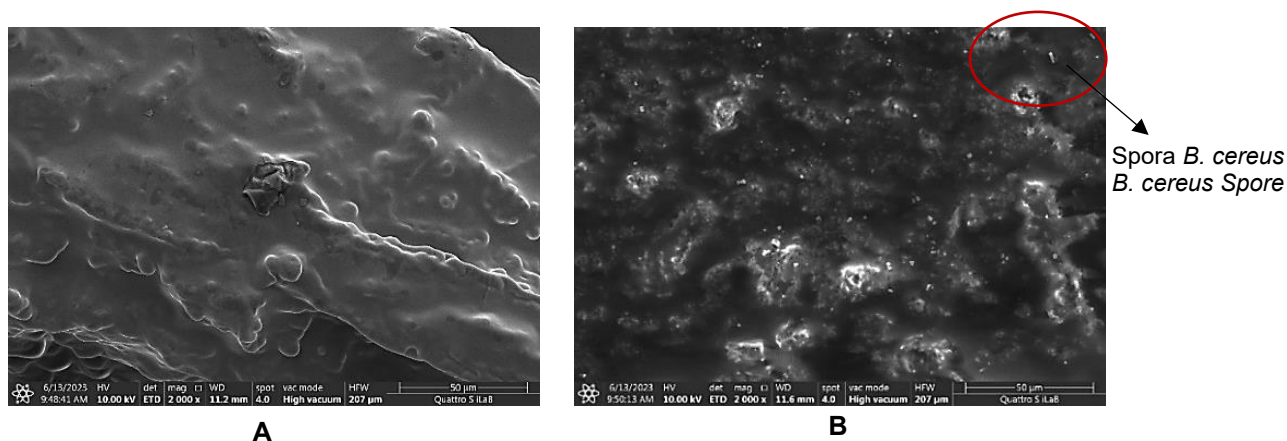
Gambar 3. Kurva perubahan jumlah spora dan total *B. cereus* selama penyimpanan rendang  
 Figure 3. Changes in the number of spores and total *B. cereus* during storage of rendang

Tabel 6. Laju perubahan jumlah *B. cereus* selama penyimpanan rendang  
 Table 6. Rate of change in the number of *B. cereus* during storage of rendang

| Pengamatan<br>(Observation)                                                                                   | Slope (-k/2,303)*<br>(Slope (-k/2,303)*) | Nilai K=1/slope (jam)<br>(K Value=1/slope (h)) |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Spora dalam rendang (Spores in rendang)                                                                       | -0.183                                   | 5.464                                          |
| Spora dalam kontrol (Spores in control)                                                                       | -0.057                                   | 17.543                                         |
| Total bakteri (vegetatif dan spora) dalam rendang<br>(Total bacteria (vegetative cells and spore in rendang)) | -0.044                                   | 22.727                                         |
| Total bakteri (vegetatif dan spora) dalam kontrol<br>(Total bacteria (vegetative cells and spore in control)) | 0.008                                    | 125                                            |

Keterangan: \*Slope positif menunjukkan kurva peningkatan/pertumbuhan *B. cereus*, slope negatif menunjukkan kurva penurunan/kematian *B. cereus*

Note: \*Positive slope indicates the increasing/growth curve of *B. cereus*, negative slope indicates the declining/death curve of *B. cereus*



Gambar 4. Morfologi spora *B. cereus* pasca pemanasan diamati dengan SEM (perbesaran 2000x). A= Spora *B. cereus* dalam rendang, B= Spora *B. cereus* dalam kontrol

Figure 4. Morphology of *B. cereus* spores after heating observed using SEM (at 2000x magnification). A= *B. cereus* spores in rendang, B= *B. cereus* spores in control

## KESIMPULAN

Waktu pemanasan berpengaruh terhadap karakteristik rendang yang dihasilkan. Lama waktu pemasakan rendang akan menghasilkan rendang dengan penampakan visual coklat kehitaman dan tekstur yang kering. Pengolahan rendang dengan waktu pemanasan 6 jam menghasilkan rendang yang memiliki karakteristik visual coklat kehitaman dengan kadar air sebesar 35,77%;  $a_w$  0,90; dan pH 5,72. Jumlah spora dan total sel *B. cereus* mengalami penurunan yang signifikan pada rendang dan kontrol selama pemasakan rendang, namun laju penurunan/kematian *B. cereus* lebih cepat terjadi pada rendang dibandingkan kontrol. Setelah pemanasan selama 6 jam rendang maupun kontrol memiliki jumlah akhir *B. cereus*  $<1,0$  log CFU/g sehingga rempah tidak terlalu memberikan efek yang signifikan terhadap *B. cereus* dan inaktivasi spora terutama disebabkan oleh pemanasan. Selama penyimpanan rendang, spora *B. cereus* tidak bergerminasi dan jumlahnya cenderung konstan hingga hari ke 4 yaitu sebesar  $5,1$  log CFU/g, sementara pada kontrol berjumlah  $5,2$  log CFU/g. Bumbu rendang yang terdiri dari berbagai rempah berperan dalam menghambat spora *B. cereus* untuk bergerminasi walaupun tidak secara signifikan berpengaruh terhadap penurunan total sel *B. cereus* selama penyimpanan rendang pada suhu ruang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ananda, R., Yuwono, S. S., & Wijayanti, N. (2017). The effect of proportion of oil and the duration of heating on physical chemical and organoleptic characteristic of instant betutu seasoning. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 5(4), 49–57.
- Asgar, A., Musaddad, D., Rahayu, S. T., & Levianny, P. S. (2022). Effect of temperature and drying time on chemical, physical and organoleptic characteristics of dry winged beans. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1024(1), 012004. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1024/1/012004>
- Batt, C., & Patel, P. (2014). *Bacillus cereus: Encyclopedia of Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> Ed.). Elsevier.
- Bottone, E. J. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(2), 382–398. <https://doi.org/10.1128/CMR.00073-09>
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2022). Laporan Tahunan 2022 Badan Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- [Perka BPOM] Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2016). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 24 Tahun 2016 tentang Persyaratan Pangan Steril Komersial. Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2009). Syarat Nasional Indonesia tentang Rendang Daging Sapi (SNI-7474-2009). Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Carlin, F., Albagnac, C., Rida, A., Guinebretière, M. H., Couvert, O., & Nguyen-the, C. (2013). Variation of cardinal growth parameters and growth limits according to phylogenetic affiliation in the *Bacillus cereus* group. Consequences for risk assessment. *Food Microbiology*, 33(1), 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.08.014>

- Chotyakul, N., Velazquez, G., & Torres, J. A. (2011). Assessment of the uncertainty in thermal food processing decisions based on microbial safety objectives. *Journal of Food Engineering* 102(3), 247–256. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.08.027>
- Dias, D. O., Colombo, M., Kelmann, R. G., Kaiser, S., Lucca, L. G., Teixeira, H. F., Limberger, R. P., & Koester, L. S. (2014). Optimization of copaiba oil-based nanoemulsions obtained by different preparation methods. *Industrial Crops and Products*, 59(2014), 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.007>
- Evelyn, & Silva, F. V. M. (2015). Thermosonication versus thermal processing of skim milk and beef slurry: Modeling the inactivation kinetics of psychrotrophic *Bacillus cereus* spores. *Food Research International*, 67, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.10.028>
- Faridah, A., & Holinesti, R. (2021). Evaluation of nutritional content of beef rendang using wet and dry seasonings. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 810(1), 012055. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/810/1/012055>
- [FDA] Food and Drug Administration. (2012). BAM Chapter 14: *Bacillus cereus*. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-14-Bacillus-cereus> [Retrieved January 10, 2022]
- Fogele, B., Granta, R., Valciņa, O., & Bērziņš, A. (2018). Occurrence and diversity of *Bacillus cereus* and moulds in spices and herbs. *Food Control*, 83, 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.038>
- Gopal, N., Hill, C., Ross, P. R., Beresford, T. P., Fenelon, M. A., & Cotter, P. D. (2015). The prevalence and control of *Bacillus* and related spore-forming bacteria in the dairy industry. *Front Microbiology*, 6, 1418. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01418>
- Hariram, U., & Labbé, R. G. (2016). Growth and inhibition by spices of growth from spores of enterotoxigenic *Bacillus cereus* in cooked rice. *Food Control*, 64, 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.12.024>
- Houška, M., Kýhos, K., Landfeld, A., Průchová, J., Schlemmerová, L., Šmuhařová, H., Špelina, V., & Novotná, P. (2007). Dry heat inactivation of *Bacillus cereus* in rice. *Czech Journal of Food Sciences*, 25(4), 208–213. <https://doi.org/10.17221/692-CJFS>
- Johnson, E. A. (2019). *Clostridium botulinum* (5<sup>th</sup> Ed.). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555819972.ch18>
- Juneja, V. K., Mishra, A., & Pradhan, A. K. (2018). Dynamic predictive model for growth of *Bacillus cereus* from spores in cooked beans. *Journal of Food Protection*, 81(2), 308–315. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-391>
- Kumar, Y., Agarwal, S., Srivastava, A., Kumar, S., & Agarwal, G., Khan, M. Z. A. (2014). Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and garlic (*Allium sativum*) on different pathogenic bacteria. *International Journal of Pure Applied Bioscience*, 2(3), 305–311.
- Kwon, S., Kwon, E., Hong, Y., & Kim, S. (2022). Germination of *Bacillus cereus* ATCC 14579 spore at various conditions and inactivation of the germinated cells with microwave heating and UVC treatment in milk samples. *LWT*, 154(2022), 112702. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112702>
- Liu, X. Y., Hu, Q., Xu, F., Ding, S. Y., & Zhu, K. (2020). Characterization of *Bacillus cereus* in dairy products in China. *Toxins (Basel)*, 12(7), 454. <https://doi.org/10.3390/toxins12070454>
- Meghwal, P., Udyavara, V., Dhagat, U. M., Solanki, A., Bagwe, H., & Mishra, S. 2023. Prevalence of *Bacillus cereus* in milk and milk products. *International Journal of Life Sciences Research*, 11(4), 29–34. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10259094>
- Milojevic, L., Velebit, B., Djordjevic, V., Jankovic, V., Lakicevic, B., Bajcic, A., & Betic, N. (2019). Screening of *Bacillus cereus* presence in minced meat and meat products originating from Serbian retail facilities. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 333(1), 012079. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/333/1/012079>
- Nanteza, H., Dewanti-Hariyadi, R., & Nurjanah, S. (2022). The occurrence of *Bacillus cereus* in white pepper from Bogor, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1097(1), 012030. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1097/1/012030>
- Navaneethan, Y., & Effarizah, M. E. (2023). Post-cooking growth and survival of *Bacillus cereus* spores in rice and their enzymatic activities leading to food spoilage potential. *Foods*, 12(3), 626. <https://doi.org/10.3390/foods12030626>
- Novak, J. S., Call, J., Tomasula, P., & Luchansky, J. B. (2005). An assessment of pasteurization treatment of water, media, and milk with respect to *Bacillus* spores. *Journal of Food Protection*, 68(4), 751–757. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.4.751>

- Olguín-Araneda, V., Banawas, B., Sarker, M. R., Paredes-Sabja, D. (2015). Recent advances in germination of *Clostridium* spores. *Research in Microbiology*, 166(4), 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.07.017>
- Opstal, V. I., Bagamboula, C. F., Vanmuysen, S. C. M., Wuytack, E. Y., & Michiels, C. W. (2004). Inactivation of *Bacillus cereus* spores in milk by mild pressure and heat treatments. *International Journal of Food Microbiology*, 92(2), 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.09.011>
- Oyedemi, B. O. M., Kotsia, E. M., Stapleton, P. D., & Gibbons, S. (2019). Capsaicin and gingerol analogues inhibit the growth of efflux-multidrug resistant bacteria and r-plasmids conjugal transfer. *Journal of Ethnopharmacology*, 245(2019), 111871. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111871>
- Prabhakar, K. (2014). *Encyclopedia of Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> Ed.). Intermediate Moisture Foods (pp 372–376). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00170-1>
- Quirino, D. F., Palma, M. N. N., Franco, M. O., & Detmann, E. (2023). Variations in methods for quantification of crude ash in animal feeds. *Journal of AOAC International*, 106(1), 6–13. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsac100>
- Rialita, T., Rahayu, W. P., Nuraida, L., & Nurtama, B. (2015). Aktivitas antimikroba minyak esensial jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dan lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) terhadap bakteri patogen dan perusak pangan. *Agritech*, 35(1), 43–52. <https://doi.org/10.22146/agritech.9418>
- Rini, Azima, F., Sayuti, K., & Novelina. (2016). The evaluation of nutritional value of rendang minangkabau. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9(2016), 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.146>
- Rizki, W. M., Dewanti-Hariyadi, R., & Kusumaningrum, H. D. (2022). Comparison of predictive growth models for *Bacillus cereus* in cooked and fried rice during storage. *The Annals of the University Dunarea De Jos of Galati, Fascicle VI: Food Technology*, 46(2), 89–103. <https://doi.org/10.35219/foodtechnology.2022.2.07>
- Rodrigo, D., Rosell, C. M., & Martinez, A. (2021). Risk of *Bacillus cereus* in relation to rice and derivatives. *Foods*, 10(2), 302. <https://doi.org/10.3390/foods10020302>
- Salem, N., Kamal, J., El A., Nasef, S. A., & Mahmoud, H. B. (2015). Prevalence of *Bacillus cereus* in milk and milk products. *Animal Health Research Journal*, 3(2), 168–172. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.33107.63526>
- Shrestha, D., Sapkota, H., Baidya, P., & Basnet, S. (2016). Antioxidant and antibacterial activities of *Allium sativum* and *Allium cepa*. *Bulletin of Pharmaceutical Research*, 6(2), 50–55. <https://doi.org/10.21276/bpr.2016.6.2.3>
- Soni, A., Oey, I., Silcock, P., & Bremer, P. (2016). *Bacillus* spores in the food industry: a review on resistance and response to novel inactivation technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 1139–1148. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12231>
- Soni, A., Oey, I., Silcock, P., & Bremer, P. J. (2018). Impact of temperature, nutrients, pH and cold storage on the germination, growth and resistance of *Bacillus cereus* spores in egg white. *Food Research International*, 106(2018), 394–403. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.006>
- Teixeira, A. (1997). Thermal Processing of Canned Food. In D. R. Helman & S. B. Lund (Eds.), *Handbook of Food Engineering* (2<sup>nd</sup> Ed.). CRC Press.
- Tian, Y., Jia, X., Wang, Q., Lu, T., Deng, G., Tian, M., & Zhou, Y. (2022). Antioxidant, antibacterial, enzyme inhibitory, and anticancer activities and chemical composition of *Alpinia galanga* flower essential oil. *Pharmaceuticals*, 15(9), 1069. <https://doi.org/10.3390/ph15091069>
- Yu, P., Yu, S., Wang, J., Guo, H., Zhang, Y., Liao, X., Zhang, J., Wu, S., Gu, Q., Xue, L., Zeng, H., Pang, R., Lei, T., Zhang, J., Wu, Q., Ding, Y. (2019). *Bacillus cereus* isolated from vegetables in China: Incidence, genetic diversity, virulence genes, and antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00948>