

Deteksi Keanekaragaman Bakteri Enteropatogenik pada Produk Susu Kemasan

Skripsi



**Magdalena Edwina Kartika Putri
31140042**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2018**

Deteksi Keanekaragaman Bakteri Enteropatogenik pada Produk Susu Kemasan

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



**Magdalena Edwina Kartika Putri
31140042**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2018**

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Magdalena Edwina Kartika Putri
NIM : 31140042

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

"Deteksi Keanekaragaman Bakteri Enteropatogenik pada Produk Susu Kemasan"

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 25 Mei 2018



Magdalena Edwina Kartika Putri

Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

DETEKSI KEANEKARAGAMAN BAKTERI ENTEROPATOGENIK PADA PRODUK SUSU
KEMASAN

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

MAGDALENA EDWINA KARTIKA PUTRI
31140042

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada tanggal 25 Mei 2018

Nama Dosen

1. Prof. drh. Widya Asmara, SU., Ph.D
(Dosen Pengaji/Ketua Pengaji)
2. Tri Yahya Budiarso, S.Si. MP.
(Dosen Pembimbing I)
3. Dr. Charis Amarantini, M.Si.
(Dosen Pembimbing II)

Tanda Tangan

Yogyakarta, 25 Mei 2018

Disahkan Oleh:

Dekan,

Drs. Kisworo, M.Sc.

Ketua Program Studi

Dra. Aniek Prasetyaningsih., M.Si.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunianya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul: “**Deteksi Keanekaragaman Bakteri Enteropatogenik pada Produk Susu Kemasan**”

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.

Selama melakukan penelitian dan penulisan skripsi ini tentunya saya mendapat banyak bantuan dari berbagai pihak yang telah mendukung dan membimbing saya. Kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya saya berikan kepada:

1. Drs. Kisworo, M.Sc. Selaku Dekan Fakultas Bioteknologi, terimakasih atas bimbingannya selama ini.
2. Tri Yahya Budiarso, S.Si. MP. selaku dosen pembimbing utama saya dan selaku bapak yang saya cintai dan Dr. Charis Amarantini, M.Si. selaku dosen pembimbing kedua saya dan selaku ibu yang saya cintai di Fakultas Bioteknologi, terimakasih atas pengorbanan yang telah bapak dan ibu berikan baik waktu, ilmu dan kasih sayang, terimakasih telah sabar membimbing saya hingga saya mampu menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Seluruh bapak ibu dosen dan seluruh staff Fakultas Bioteknologi yang saya cintai, terimakasih atas semuanya, nasihat, bimbingan, motivasi dan segala bantuan yang telah diberikan kepada saya sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi dengan lancar dan baik.
4. Seluruh Laboran Laboratorium Bioteknologi yang telah membantu dan dengan sabar membantu menyiapkan dan memberikan segala nasihat sehingga penelitian ini dapat berjalan dan terselesaikan dengan baik.
5. Orang Tua Mami Nurmala dan Papi Bhekki Agus Yulianto terimakasih atas semua yang telah diberikan untuk saya, kasih sayang, dorongan doa, dorongan motivasi, nasihat yang tiada henti, dan pengorbanan materi yang telah saya habiskan selama menjalankan skripsi ini.
6. Teman-teman seperjuangan: Palimirma Edenia Irawan, Eunike Marganingrum A. S, Yesica Puteri, Manuel Erika Hartanto, Angelia Wattimury, Mutiara Kusuma, Fina Chintia, Evelyn Ferdian, Intan Puteri dan Levita Sari terimakasih atas saling supportnya, bantuannya, doanya dan bimbingannya serta yang paling penting terimakasih atas kebersamaannya hingga kita bisa menyelesaikan skripsi bersama.
7. Seluruh keluarga besar Samen Siswohardono yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terimakasih segala bentuk supportnya, nasihat dan doa yang telah diberikan untuk saya.

Akhir kata dengan tanpa mengurangi rasa hormat saya ucapan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu saya dalam segala hal demi melancarkan skripsi ini, semoga Tuhan selalu menyertai dan memberikan yang terbaik bagi kita semua. Amin.

Yogyakarta, 25 Mei 2018

Magdalena Edwina Kartika Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah.....	1
1.3. Tujuan.....	2
1.4. Manfaat.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Kejadian Luar Biasa Akibat Mengkonsumsi Produk Susu Kemasan	3
2.2. Jenis Bakteri Kontaminasi pada Produk Susu Kemasan	4
2.3. Sifat Patogenisitas	4
2.4. Sifat Resistensi Terhadap Obat	5
2.5. Efektivitas Pemanasan terhadap Kematian Bakteri pada Susu	6
2.6. Jalur Sumber Kontaminasi dan Infeksi	7
BAB III. METODE PENELITIAN	9
3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	9
3.2. Alat	9
3.3. Bahan	9
3.4. Tahap Penelitian	9
3.4.1..Preparasi Alat dan Bahan.....	10
3.4.2..Koleksi Sampel	10
3.4.3..Tahap Resusitasi	10
3.4.4..Isolasi	10
3.4.5..Seleksi	11
3.4.5.1. Deteksi <i>Salmonella</i>	11
3.4.5.2. Deteksi <i>Enterobacter sakazakii</i>	11
3.4.5.3. Deteksi <i>Escherichia coli O157:H7</i>	11
3.4.6..Uji Biokimia.....	11
3.4.6.1. Uji Motilitas	11
3.4.6.2. Uji Urea	11
3.4.6.3. Uji TSIA	12
3.4.6.4. Uji IMVIC	12
3.4.6.5. Uji API 20E	12
3.4.6.6. Uji Aglutinasi Latex.....	13
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	14
4.1. Enumerasi Bakteri Enteropatogenik.....	14
4.2. Seleksi Bakteri <i>True Pathogenic (Salmonella, Shigella, Yersinia)</i>	16
4.3. Seleksi Bakteri Terduga Patogen.....	17
4.4. Uji Aglutinasi Latex	17
4.5. Uji Motilitas	18

4.6. Uji Urea	19
4.7. Uji TSIA	20
4.8. Uji IMVIC	21
4.9. Hasil Uji Biokimia.....	22
4.10. Konfirmasi API 20E.....	23
BAB V. PENUTUP	26
5.1. Kesimpulan.....	26
5.2. Saran	26
DAFTAR PUSTAKA.....	27
LAMPIRAN	29

DAFTAR TABEL

	Halaman
1 Hasil Enumerasi Total Koloni dan Total Coliform pada Medium CCA.....	15
2 Jumlah Hasil Positif Motilitas yang Didapatkan	48
3 Jumlah Isolat Negatif Urea yang Didapatkan.....	48
4 Hasil Uji Biokimia Untuk Seleksi Tersangka Bakteri Enteropatogenik	23

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1 Tahapan Penelitian Deteksi Keanekaragaman Bakteri Enteropatogenik pada Produk Susu Kemasan	10
2 Hasil Seleksi Koloni Terduga <i>Salmonella</i> pada Medium SSA	16
3 Hasil Seleksi Koloni Merah Menggunakan Medium DFI dan SMAC.....	17
4 Hasil Uji Konfirmasi Aglutinasi Latex.....	18
5 Hasil Uji Motilitas dari Beberapa Isolat	19
6 Hasil Uji Urea.....	20
7 Hasil Uji TSIA.....	21
8 Hasil Uji IMVIC.....	21
9 Hasil Uji API 20E pada 7 Isolat Tersangka.....	24

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1 Komposisi Medium	30
2 Bagan Alir Cara Kerja Isolasi Hingga Uji Biokimia.....	32
3 BaganAlir Cara Kerja Uji Konfirmasi Menggunakan API 20E	34
4 Tabel Hasil Isolasi dan Enumerasi pada Medium CCA	35
5 Tabel Hasil Uji Biokimia.....	37
6 Foto Hasil Isolasi dan Enumerasi pada Medium CCA.....	40
7 Hasil Uji API 20E.....	41
8 Tabel Hasil Uji Motilitas dan Uji Urea	48

Deteksi Keanekaragaman Bakteri Enteropatogenik pada Produk Susu Kemasan

Magdalena Edwina Kartika Putri

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Abstrak. Produk susu kemasan sangat diminati oleh masyarakat terutama anak sekolah dasar. Produk susu kemasan yang diolah dengan pemanasan melalui proses pasteurisasi maupun UHT masih memungkinkan membawa cemaran bakteri enteropatogenik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman bakteri enteropatogenik pada produk susu kemasan. Sebanyak 20 sampel produk susu kemasan diproses secara pasteurisasi dan UHT yang dijual di lingkungan sekolah kota Yogyakarta diambil secara acak, untuk kemudian dilakukan deteksi bakteri enteropatogenik. Sampel diresusitasi menggunakan medium pepton 1% dan dienumerasi ke medium *Chromocult Coliform Agar* (CCA). Koloni terduga enteropatogenik diseleksi menggunakan medium *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Druggan Forsythe Iversen* (DFI), *Sorbitol-MacConkey Agar* (SMAC), dan berbagai uji biokimia lainnya. Isolat terduga kemudian dikonfirmasi menggunakan API 20E. Hasil analisis menunjukkan cemaran pada susu pasteurisasi didominasi oleh bakteri coliform dan sebanyak 6 isolat bakteri teridentifikasi sebagai: *Hafnia alvei* (99,9%), *Enterobacter cloacae* (95,7%), *Serratia marcescens* (97,1%) dan tiga isolat *Klebsiella oxytoca* (97,8%).

Kata kunci: Bakteri enteropatogenik, produk susu kemasan, UHT, pasteurisasi, API 20E

Detection of Diversity of Enteropathogenic Bacteria in Dairy Milk Products

Magdalena Edwina Kartika Putri

Abstract: *Dairy Milk Products is favored among society especially elementary school. Dairy milk product treated with heat through pasteurization or ultra high temperature (UHT) still have the chance to contain enteropathogenic bacteria. This research purposes was to find out enteropathogenic diversity which contaminated in dairy milk products sold in elementary school environment. 20 samples of UHT and pasteurised products taken randomly were inoculated in 1% pepton for resuscitation and Chromocult Coliform Agar (CCA) for enumeration. The suspected colonies were further selected using Salmonella Shigella Agar (SSA), Druggan Forsythe Iversen (DFI), Sorbitol-MacConkey Agar (SMAC) and finally identified using various biochemical tests and API 20E. The Enteropathogenic Bacteria found in pasteurized milk were dominated by coliform bacteria and 6 species of them were identified as *Hafnia alvei* (99,9%), *Enterobacter cloacae* (95,7%), *Serratia marcescens* (97,1%) dan three isolates of *Klebsiella oxytoca* (97,8%).*

Keywords: *Enteropathogenic bacteria, dairy milk product, UHT, pasteurization, API 20E*

Deteksi Keanekaragaman Bakteri Enteropatogenik pada Produk Susu Kemasan

Magdalena Edwina Kartika Putri

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Abstrak. Produk susu kemasan sangat diminati oleh masyarakat terutama anak sekolah dasar. Produk susu kemasan yang diolah dengan pemanasan melalui proses pasteurisasi maupun UHT masih memungkinkan membawa cemaran bakteri enteropatogenik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman bakteri enteropatogenik pada produk susu kemasan. Sebanyak 20 sampel produk susu kemasan diproses secara pasteurisasi dan UHT yang dijual di lingkungan sekolah kota Yogyakarta diambil secara acak, untuk kemudian dilakukan deteksi bakteri enteropatogenik. Sampel diresusitasi menggunakan medium pepton 1% dan dienumerasi ke medium *Chromocult Coliform Agar* (CCA). Koloni terduga enteropatogenik diseleksi menggunakan medium *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Druggan Forsythe Iversen* (DFI), *Sorbitol-MacConkey Agar* (SMAC), dan berbagai uji biokimia lainnya. Isolat terduga kemudian dikonfirmasi menggunakan API 20E. Hasil analisis menunjukkan cemaran pada susu pasteurisasi didominasi oleh bakteri coliform dan sebanyak 6 isolat bakteri teridentifikasi sebagai: *Hafnia alvei* (99,9%), *Enterobacter cloacae* (95,7%), *Serratia marcescens* (97,1%) dan tiga isolat *Klebsiella oxytoca* (97,8%).

Kata kunci: Bakteri enteropatogenik, produk susu kemasan, UHT, pasteurisasi, API 20E

Detection of Diversity of Enteropathogenic Bacteria in Dairy Milk Products

Magdalena Edwina Kartika Putri

Abstract: *Dairy Milk Products is favored among society especially elementary school. Dairy milk product treated with heat through pasteurization or ultra high temperature (UHT) still have the chance to contain enteropathogenic bacteria. This research purposes was to find out enteropathogenic diversity which contaminated in dairy milk products sold in elementary school environment. 20 samples of UHT and pasteurised products taken randomly were inoculated in 1% pepton for resuscitation and Chromocult Coliform Agar (CCA) for enumeration. The suspected colonies were further selected using Salmonella Shigella Agar (SSA), Druggan Forsythe Iversen (DFI), Sorbitol-MacConkey Agar (SMAC) and finally identified using various biochemical tests and API 20E. The Enteropathogenic Bacteria found in pasteurized milk were dominated by coliform bacteria and 6 species of them were identified as *Hafnia alvei* (99,9%), *Enterobacter cloacae* (95,7%), *Serratia marcescens* (97,1%) dan three isolates of *Klebsiella oxytoca* (97,8%).*

Keywords: *Enteropathogenic bacteria, dairy milk product, UHT, pasteurization, API 20E*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Produk susu kemasan merupakan produk susu yang telah mengalami proses pemanasan dan dikemas dengan hermentis sehingga dapat menunda perusakan produk. Berdasarkan dari proses pemanasan yang diterapkan saat ini ada 2 jenis susu yang dapat dijumpai yaitu susu Pasteurisasi dan susu *Ultra High Temperature (UHT)*. Susu Pateurisasi adalah susu yang telah melalui proses pemanasan dengan menggunakan suhu 161°F (71°C) selama minimal 15 menit atau dengan suhu 145°F (64°C) selama 30 menit yang bertujuan untuk membunuh bakteri yang ada pada susu (Anonim, 2007). Produk susu UHT merupakan susu yang diproses dengan pemanasan pada suhu 130°C hingga 150°C selama 1 sampai 3 detik (Manners, 2003). Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan ternyata walaupun susu telah mengalami proses pemanasan baik Pasteurisasi ataupun UHT belum tentu dapat membunuh semua kontaminan bakteri terutama bakteri pathogen yang terkandung di dalam susu. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi mati tidaknya bakteri, mulai dari kualitas bahan baku, jumlah kontaminan yang terkandung di dalam susu, dan jenis kontaminan. Keberadaan cemaran bakteri inilah yang sangat membutuhkan perhatian yang lebih karena produk susu kemasan sangat diminati oleh masyarakat luas terutama pada anak sekolah. Susu merupakan bahan makanan yang sangat penting untuk kebutuhan manusia karena mengandung nutrisi yang sangat diperlukan bagi tubuh seperti protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral selain itu juga produk susu kemasan dinilai sangat praktis, lebih awet dan memiliki harga yang sangat terjangkau serta kandungan gizi yang ada pada susu akan tetap terjaga. (Gudeta, 1987 dan Godefay, 2000).

Pada kurun waktu 2009 hingga 2014 di Amerika Serikat, rata-rata sebanyak 760 wabah pertahun yang terkait dengan konsumsi susu mulai terjadi. Sebagian besar terserang infeksi yang berasal dari *Listeria*, *Campylobacter*, *Salmonella*, dan disebabkan oleh karena adanya Shiga Toxin yang diproduksi oleh bakteri *Escherichia coli* (STEC) di dalam produk susu (Costard, 2017).

Di kota Yogyakarta sendiri produk susu kemasan sangat diminati oleh masyarakat luas dan adanya isolat *coliform* dapat dilihat dari titik kontrol kritis dari suatu produksi seperti rumah susu yang tidak bersih, prosedur pemerasan susu yang tidak benar, persiapan asupan untuk ternak yang kurang baik dan kurangnya pengelolaan kesehatan. Produk susu kemasan yang telah melalui proses pemanasan tidak menjamin bakteri yang ada dapat mati sempurna sehingga dapat menyebabkan timbulnya berbagai wabah penyakit. Oleh karena itulah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap keanekaragaman bakteri enteropatogenik penyebab berbagai penyakit yang terdapat dalam produk susu kemasan.

1.2. Perumusan Masalah

Kandungan cemaran yang tinggi pada bahan baku susu kemasan walaupun telah melalui proses pasteurisasi dan UHT masih memungkinkan membawa cemaran bakteri enteropatogenik yang dapat membahayakan kesehatan masyarakat, sebagaimana dibuktikan oleh tingkat *Food Borne Diseases* yang terkait dengan produk susu kemasan. Hal inilah yang menjadikan produk susu kemasan sangat menarik untuk diteliti lebih lanjut untuk dideteksi keanekaragaman bakteri enteropatogenik yang terdapat pada produk susu kemasan.

1.3. Tujuan

Mendeteksi kontaminan bakteri enteropatogenik pada produk susu kemasan melalui isolasi dan identifikasi biokima serta konfirmasi dengan menggunakan uji API 20E.

1.4. Manfaat**1 Bagi Masyarakat Luas**

Memberikan informasi pada masyarakat mengenai keanekaragaman bakteri enteropatogenik pada produk susu kemasan.

2 Bagi Produsen

Mengetahui keanekaragaman bakteri yang masih terdapat dalam produk susu kemasan sehingga dapat memperbaiki kualitas manajemen mutu produk.

3 Bagi Peneliti

Mendapat pengetahuan baru tentang masih adanya bakteri pada produk susu kemasan sehingga nantinya dapat mengantisipasi bahaya sebelum mengkonsumsi produk susu dalam kemasan.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Cemaran bakteri enteropatogenik pada susu pasteurisasi didominasi oleh bakteri *coliform*. Hasil deteksi bakteri enteropatogenik yang dilakukan terhadap 20 sampel, hanya ditemukan pada produk susu kemasan pateurisasi. Sebanyak 6 jenis bakteri ditemukan dan teridentifikasi sebagai *Hafnia alvei 1* (99,9%), *Serratia marcescens* (97,1%), *Enterobacter cloacae* (95,7%) dan *Klebsiella oxytoca* (97,8%). Sedangkan pada Produk Susu Kemasan UHT belum dapat teridentifikasi menggunakan API 20E karena diduga bakteri tidak termasuk dalam Family Enterobacteriaceae.

5.2. Saran

1. Untuk Industri Susu Kemasan

Perlu dilakukan peningkatan kembali standar baku mutu ataupun proses dari produksi susu kemasan.

2. Untuk Masyarakat

Perlu teliti kembali dalam membeli produk susu kemasan dengan melihat kemasan menggembung atau tidak dan perlu dilakukan pengulangan proses pemanasan sebelum susu dikonsumsi untuk memastikan bakteri mati.

3. Untuk Anak Sekolah

Perlu pengawasan yang lebih ekstra dari orang tua sehingga anak-anak tidak mengkonsumsi produk susu kemasan yang mengalami kontaminasi.

4. Untuk Pelaku Usaha Susu Kemasan Pasteurisasi

Diusahakan mencari bahan baku susu yang lebih baik lagi atau bahan baku dengan tingkat cemaran yang rendah sehingga proses pasteurisasi mampu membunuh semua cemaran bakteri enteropatogenik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2007. Pasteurized versus Ultra-Pasteurized Milk-Why Such Long Sell-By. Department of Food Science. Cornell University.
- Burrows, W., Moulder, J.M., Lewert, R.M. 2004. Texbook of Microbiology. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- CDC. 2008. Outbreak of Listeria monocytogenes Infections Associated with Pasteurized Milk from a Local Dairy --- Massachusetts, 2007. 57(40);1097-1100.
- Chapartegui-gonzález, I., Lázaro-díez, M., Redondo-salvo, S., Amaro-, E. 2016. Biofilm Formation in *Hafnia alvei* HUMV-5920 , a Human Isolate. 2(November), 412–421. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2016.4.412>
- Costard, S., Espejo, L., Groenendaal, H., Zagmutt, F.J. 2017. Outbreak-Related Disease Burden Associated with Consumption of Unpasteurized Cow's Milk and Cheese United States, 2009-2014. *Emerg Infect Dis*, 23(6), 957–964. <https://doi.org/10.3201/eid2306.151603>.
- Dekker, J. P., & Frank, K. M. 2015. *Salmonella*, *Shigella*, and *Yersinia*. Clinics in Laboratory Medicine, 35(2), 225–246. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.002>
- Frank J.F., Koffi R.A. 1990. Surface-adherent Growth of *Listeria monocytogenes* is Associated with Increased Resistance to Surface Sanitizer and Heat. *J Food Prot*, 53:560-564.
- Fraser, S.L. 2017. Enterobacter Infections. Medicine. <http://www.emedicine.com/med/topic678.htm>
- Garedew, L., Berhanu, A., Mengesha, D., Tsegay, G. 2012. Identification of Gram-Negative Bacteria from Critical Control Points of Raw and Pasteurized Cow Milk Consumed at Gondar Town and its Suburbs, Ethiopia. *BMC Public Health*, 12(1), 950. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-950>
- Godefay, B., & Molla, B. 2000. Bacteriological Quality of Raw Milk from Four Dairy Farms and Milk Collection Center In and Around Addis Ababa. *Berl Munch Tierarztl Wschr*, 113: 1-3.
- Gudeta, M. 1987. DVM Thesis. Isolation and Identification of Enteric Bacteria in Raw Milk Produced by Three Dairy Farms at Bahir Dar Addis Ababa, Ethiopia: Faculty of Veterinary Medicine, Addis Ababa University: 27-34.
- Hani, S.F., Sami, S.A, Abeer, A. A. Barhameen, Hamdi M. El-Said, Abdelrahman Elsawy. 2015. *Serratia marcescens* as *Opportunistic* Pathogen and the Importance of Continuous Monitoring of Nosocomial Infection in Makah City , Saudi Arabia. <https://doi.org/10.4236/ojmm.2015.53013>
- Hantis-Zacharov, E., & Halpern, M. 2007. Culturable Psychrotrophic Bacterial Communities in Raw Milk and their Proteolytic and Lipolytic Traits. *Appl. Environ. Microbiol*. 73, 7162–7168. doi: 10.1128/AEM.00866-07.
- Haryani, Y., Tunung, R., Chai, L. C.,Lee, H. Y., Tang, S. Y. and Son, R. 2008. Characterization of *Enterobacter cloacae* Isolated from Street Foods. 15(1): 57–64.
- Hasan, F., Shah, A.A., & Hameed, A. 2006. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme Microb. Technol*. 39, 235–251. doi: 10.1016/j.enzmictec.2005.10.016.
- ICMSF (International Commission on Microbiology Spesification fo Food). 1998. *Microbial Ecology of Food Commodities. Microorganism in Foods*. Blackie Academic and Professional.
- Iversen, C., Druggan, P. & Forsythe, S. J. 2004. *Int. J. Food Microbiology*. In Press.
- Janda, J.M., & Abbott, S.L. 2006. The Genera *Klebsiella* and *Raoultella*, The Enterobacteria 2nd. ed. 115-129. Washington, USA: ASM Press.
- Lancelevee, J., David, L.B.K., & Martino, P.D.I. 2007. Antibiotic Resistance and Adherence Properties of *Hafnia alvei* Clinical Isolates : A 19-Month Study in the Hospital of Orléans , France, 19, 677–681.

- Langer, A.J., Ayers, T., Grass, J., Lynch, M., Angulo, F.J., & Mahon, B.E. 2012. Nonpasteurized Dairy Products, Disease Outbreaks, and State Laws—United States, 1993–2006. *Emerging Infectious Diseases*, 18(3): 385–391. <https://doi.org/10.3201/eid1803.111370>
- Lavan, C., Cariappa, C.M.P., Col, L., & Kaur, M. 2016. Science Direct Klebsiella oxytoca : An emerging pathogen? *Medical Journal Armed Forces India*, 5–7. <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2016.05.002>
- Lehninger. 1995. *Microbiology: a Laboratory Manual*. Adison-Wesley. Publishing company: California
- Lim,D. 2006. *Microbiology*. McGraw-Hill. New York.
- Manners. J, Craven H. 2003. Processing of Liquid Milk. University of Melbourne, Food Science Australia, Victoria Australia.<https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00785-9>
- March, S.B., & Ratnam, S. 1986. Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of Escherichia coli 0157 : H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. 23(5), 869–872.
- Mason, C.A., & Hamer, G. 1987. Bioprocess Engineering Survival and Activity of Klebsiella pneumoniae at Super-Optimal Temperatures. 2, 121–122.
- Mihaela Marilena Stancu. 2016. Effect of High Growth Temperature on *Serratia marcescens*. Romanian Biotechnological Letters University of Bucharest.
- Nishijima, K.A., Couey, H.M., & Alvarez, A.M. 1987. Internal Yellowing, a Bacterial Disease of Papaya Fruits Caused by *Enterobacter cloacae*. *Plant Dis.* 71:1029-1034.
- Padilla, D., Acosta, F., Garcia, J.A. 2009. Temperature Influences the Expression of Fimbriae and Flagella in *Hafnia alvei* strains: an Immunofluorescence Study. *Arch Microbiol* 191: 191–198.
- Pastore, R., Schmid, H., Altpeter, E., Baumgartner, A., Hachler, H., Imhof, R., Sudre, P., & Boubaker, K. 2008. Outbreak of *Salmonella* serovar Stanley Infections in Switzerland Linked to Locally Produced Soft Cheese, September 2006–February 2007. *Euro Surveill.* 13(37):pii=18979. [Last accessed on 2017 October 27].
- Slonczewski, J and John, F. 2009. *Microbiology: An Evolving Science*. W.W. Norton & Company, Inc. pp. 91, 488
- Song, H.S., Kim, J.Y., Kim, Y.B., Jeong, M.S., Kang, J., Rhee, J.K., Roh, S.W. 2017. Complete Genome Sequence of a Commensal Bacterium , *Hafnia alvei* CBA7124 , Isolated From Human Feces. *Gut Pathogens*. 1–5. <https://doi.org/10.1186/s13099-017-0190-0>
- Sykes, J.E. 1884. CHAPTER 36 Gram-negative Bacterial Infections. *Canine and Feline Infectious Diseases*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0795-3.00036-3>
- Talaro, K. P., B. Chess. 2012. *Foundation in Microbiology*. 8th ed. McGraw Hill, New York:xxxii + 828 hlm.
- Tavano, O.L. 2013. Protein Hydrolysis Using Peptidases: an Important Tool for Food Biotechnology. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 90, 1–11. doi: 10.1016/j.molcatb. [Last accessed on 2017 October 27].
- Turner, K.M., Restaino, L., & Frampton, E.W. 2000. Efficacy of Chromocult Coliform Agar for Coliform and *Escherichia coli* Detection in Foods. *Journal of Food Protection*, 63(4), 539–541.
- Volk, W.A. & Wheeler, M. F. 1993. *Mikrobiologi Dasar*, Erlangga, Jakarta
- Wu, Y., Hsu, P., Yang, C., Chang, H., Ye, J., Huang, C., & Lee, M. 2013. *Serratia marcescens* Meningitis : Epidemiology, Prognostic Factors and Treatment Outcomes. *JMII*, 46(4), 259–265. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2012.07.006>