

Identifikasi Isolat *Salmonella* sp Menggunakan Penanda Gen *parC*

Skripsi



Dewi Setyaningsih Sidharta
31120020

Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2016

Identifikasi Isolat *Salmonella* sp Menggunakan Penanda Gen *parC*

Skripsi

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



Dewi Setyaningsih Sidharta
31120020

Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2016

Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

IDENTIFIKASI ISOLAT *Salmonella* sp MENGGUNAKAN PENANDA GEN *parC*

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

DEWI SETYANINGSIH SIDHARTA
31120020


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 7 Oktober 2016

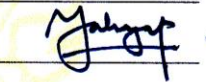
Nama Dosen

1. Dr. Charis Amarantini, M.Si
(Dosen Pembimbing I / Penguji / Ketua Tim)
2. Dr. Dhira Satwika, M.Sc
(Dosen Pembimbing II / Dosen Penguji)
3. Tri Yahya Budiarmo, S.Si. M.P
(Dosen Penguji)

Tanda Tangan







Yogyakarta, 27 Oktober 2016
Disahkan Oleh:

Dekan,




Drs. Kisworo, M.Sc

Ketua Program Studi,



Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dewi Setyaningsih Sidharta

NIM : 31120020

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul :

“Identifikasi Isolat *Salmonella* sp Menggunakan Penanda Gen *parC*”

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, 28 Oktober 2016



Dewi Setyaningsih Sidharta

KATA PENGANTAR

Puji syukur limpah terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa karena rahmat dan kasih-Nya penulis dapat melewati setiap proses hingga menyelesaikan Skripsi yang berjudul “**Identifikasi Isolat *Salmonella* sp Menggunakan Penanda Gen *parC***”. Penulis menyadari penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan berkat bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis sampaikan terima kasih kepada **Drs. Kisworo, M. Sc** selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta. **Dr. Charis Amarantini, M. Si** selaku Dosen Pembimbing I yang selalu sabar membimbing, memotivasi, dan memberikan bekal ilmu kepada penulis untuk membuat dan menyelesaikan skripsi dengan baik. **Dr. Dhira Satwika, M. Sc** selaku Dosen Pembimbing II yang telah membantu dan mengajari penulis dalam analisa data dan selalu meluangkan waktunya untuk membantu penulis dalam menganalisis data, serta memberikan saran, informasi yang dapat bermanfaat bagi penulis. **Tri Yahya Budiarto, S. Si, M.P** selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan agar penulisan skripsi menjadi lebih baik. **Kak Dewi Andini dan Mas Hari** yang telah melayani penulis dalam peminjaman alat yang dibutuhkan dan mendampingi penulis selama penelitian di laboratorium. Kedua orang tua (**Papa dan Mama**) dan **kakak** yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi tepat waktu. **Sahabat dan teman-teman angkatan 2012** yang selalu mensupport penulis untuk menyelesaikan skripsi. Terima kasih atas kebersamaan, kenangan dan persahabatan yang tidak terlupakan selama penulis menuntut ilmu di UKDW. **Maria, Nugraha, kak Stefanus, Yolla, kak Philip** yang sudah menemani dan meluangkan waktunya untuk bercerita dan bermain saat bosan menunggu sterilisasi yang lama. **Pihak-pihak lainnya** yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah memberikan bantuan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap agar hasil penelitian skripsi ini dapat memberikan manfaat dan informasi bagi pembaca. Saran dan kritik sangat penulis harapkan demi perbaikan laporan hasil penelitian skripsi ini.

Penulis

Dewi Setyaningsih Sidharta

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
Identifikasi Isolat <i>Salmonella</i> sp Menggunakan Penanda Gen <i>parC</i>	
Abstrak.....	1
Abstract	2
Bab 1. Pendahuluan.....	3
1.1. Latar belakang	3
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
Bab 2. Tinjauan Pustaka.....	5
2.1. Kontaminasi <i>Salmonella</i> pada makanan	5
2.2. Identifikasi <i>Salmonella</i> dengan menggunakan media SSA dan Rambach agar	5
2.3. Pengujian koloni bakteri pada media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) dan Urea Broth ..	7
2.4. Identifikasi Molekuler	8
Bab 3. Metode Penelitian.....	10
3.1. Waktu dan Tempat	10
3.2. Bahan	10
3.3. Alat	10
3.4. Metode Penelitian	10
3.5. Tahapan Penelitian	10
Bab 4. Hasil dan Pembahasan	13
4.1. Analisis filogenetik isolat <i>Salmonella</i> sp.....	13

4.2. Deteksi Molekuler <i>Salmonella</i> sp	15
4.3. Identitas isolat <i>Salmonella</i> sp dan profil resistensinya terhadap antibiotik	16
Bab 5. Kesimpulan dan Saran	20
Bab 6. Daftar Pustaka.....	21
LAMPIRAN	22

©UKDW

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Jenis makanan yang terkait dengan kontaminasi <i>Salmonella</i> sp	5
2. Kenampakan berbagai macam bakteri pada media miring Rambach agar	6
3. Kenampakan koloni pada media TSIA	7
4. Hasil uji sensitivitas antibiotik isolat <i>Salmonella</i> sp	14
5. Kecocokan antara isolat <i>Salmonella</i> sp dengan data di GenBank (BLASTX).....	17
6. Hasil kecocokan antara isolat <i>Salmonella</i> sp dengan data di GenBank (BLASTN)	18

©UKDW

DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Kenampakan koloni <i>Salmonella</i> pada media SSA	6
2. Kenampakan koloni <i>Salmonella</i> pada media Rambach agar	6
3. Kenampakan koloni <i>Escherichia coli</i> pada media Rambach agar.....	6
4. Kenampakan berbagai macam koloni pada media TSIA.....	7
5. Kenampakan TSIA <i>Salmonella</i> Typhi	7
6. Tahapan alur penelitian	12
7. Koloni <i>black center</i> isolat <i>Salmonella</i> sp pada media SSA	13
8. Koloni <i>Salmonella</i> sp pada media Rambach agar.....	13
9. Koloni <i>Salmonella</i> sp pada media TSIA.....	14
10. Koloni <i>Salmonella</i> sp pada media Urea.....	14
11. Hasil uji sensitivitas isolat <i>Salmonella</i> sp terhadap antibiotik	15
12. Hasil isolasi DNA isolat <i>Salmonella</i> sp	16
13. Hasil elektroforesis produk PCR isolat <i>Salmonella</i> sp	16
14. Urutan basa DNA <i>Salmonella</i> sp dalam bentuk text	17
15. Hubungan filogenetik isolat <i>Salmonella</i> sp dengan menggunakan metode likelihood tree.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1a. Hasil sekuensing isolat <i>Salmonella</i> sp (<i>forward</i>).....	23
1b. Hasil sekuensing isolat <i>Salmonella</i> sp (<i>reverse</i>)	23
2. Hasil <i>alignment</i> isolat <i>Salmonella</i> sp menggunakan Clustal X2.....	24
3. Hasil <i>alignment</i> isolat <i>Salmonella</i> sp menggunakan MEGA7.....	24
4. Hasil BLASTX isolat <i>Salmonella</i> sp	25
5. Hasil Kesesuaian antara isolat <i>Salmonella</i> sp dengan data di GenBank	25
6. Hasil BLASTN isolat <i>Salmonella</i> sp	26
7. Hasil kesesuaian protein antara isolat <i>Salmonella</i> sp dengan data di GenBank	26
8. Hasil <i>conserved domains</i> dari isolat <i>Salmonella</i> sp	27
9. Tahapan isolasi DNA menggunakan kit	28

IDENTIFIKASI ISOLAT *Salmonella* sp MENGGUNAKAN PENANDA GEN *parC*

DEWI SETYANINGSIH SIDHARTA

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi isolat *Salmonella* sp yang berasal dari susu sapi dengan menggunakan penanda gen *parC*. Berdasarkan penelitian terdahulu, isolat tersebut telah diidentifikasi sebagai *Salmonella* spp menggunakan kit API 50 CHE dengan nilai kepercayaan sebesar 99% (Gadi, 2010) dan memiliki kemiripan terhadap *Salmonella* Typhi NCTC 786 dengan nilai similaritas sebesar 75,5% (Budiarso dan Amarantini, 2012). Pada penelitian ini dilakukan deteksi gen *parC* dan identifikasi secara molekuler untuk mengetahui hubungan kekerabatannya dengan isolat klinis *Salmonella* Typhi menggunakan penanda indigenus gen *parC*. Isolat tersebut terlebih dahulu diuji sifat resistensi antibiotik menggunakan metode *Kirby-Bauer Disk Diffusion Test*. Deteksi gen *parC* menggunakan metode PCR dengan penanda gen *parC* asal isolat indigenus Indonesia yang mengamplifikasi DNA dengan ampikon sebesar 315 bp. Produk PCR dimurnikan dan dilakukan sekuensing untuk mengetahui urutan nukleotida. Sekuen nukleotida selanjutnya dianalisa dan disusun pohon filogeni dengan menggunakan serangkaian *software* yang tersedia *online* secara bebas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penanda indigenus gen *parC* mampu mendeteksi isolat *Salmonella* sp dari sampel susu. Hasil filogenetik menunjukkan bahwa isolat yang diuji berkerabat dekat dengan *Salmonella* Typhi O BLK Yogyakarta. Penanda indigenus gen *parC* sudah cukup sensitif, tetapi perlu dikembangkan agar lebih spesifik untuk *Salmonella*

Kata kunci : *Salmonella* sp, PCR, Gen *parC*, Susu sapi

Identification of *Salmonella* sp Using Gene Marker *parC*

DEWI SETYANINGSIH SIDHARTA

Abstract

The presence of *Salmonella* sp has been detected from milk sample from Yogyakarta and the isolate has been identified as *Salmonella* sp based on its biochemical characteristics, and it also has similarities to *Salmonella* Typhi NCTC786 based on its nucleotide sequence. This research is conducted with the objective to molecularly identified this isolate using specific primer for *Salmonella* sp targetting *parC* gene. Firstly, sensitivity assay was done in order to determine the resistance of the isolate against ciprofloxacin and nalidixic acid. After DNA isolation was done, it is then sequenced and the resulted sequence was subsequently analysed by mean of sequences alignment. It is found out that the suspected *Salmonella* spp was convincingly identified as salmonellae member based on its *parC* gene. The phylogenetic tree showed the isolate is included as the same cluster with most of *Salmonella* spp members, separated with another cluster where the *E. coli* located. This result showed isolate *Salmonella* sp has similarities with *Salmonella* Typhi O BLK Yogyakarta. This also shows sensitivity of the newly designed primer targetting *parC* in determining the identity of *Salmonella* sp.

Keywords: *Salmonella* sp, PCR, *parC* gene, Cow milk

IDENTIFIKASI ISOLAT *Salmonella* sp MENGGUNAKAN PENANDA GEN *parC*

DEWI SETYANINGSIH SIDHARTA

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi isolat *Salmonella* sp yang berasal dari susu sapi dengan menggunakan penanda gen *parC*. Berdasarkan penelitian terdahulu, isolat tersebut telah diidentifikasi sebagai *Salmonella* spp menggunakan kit API 50 CHE dengan nilai kepercayaan sebesar 99% (Gadi, 2010) dan memiliki kemiripan terhadap *Salmonella* Typhi NCTC 786 dengan nilai similaritas sebesar 75,5% (Budiarso dan Amarantini, 2012). Pada penelitian ini dilakukan deteksi gen *parC* dan identifikasi secara molekuler untuk mengetahui hubungan kekerabatannya dengan isolat klinis *Salmonella* Typhi menggunakan penanda indigenus gen *parC*. Isolat tersebut terlebih dahulu diuji sifat resistensi antibiotik menggunakan metode *Kirby-Bauer Disk Diffusion Test*. Deteksi gen *parC* menggunakan metode PCR dengan penanda gen *parC* asal isolat indigenus Indonesia yang mengamplifikasi DNA dengan ampikon sebesar 315 bp. Produk PCR dimurnikan dan dilakukan sekuensing untuk mengetahui urutan nukleotida. Sekuen nukleotida selanjutnya dianalisa dan disusun pohon filogeni dengan menggunakan serangkaian *software* yang tersedia *online* secara bebas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penanda indigenus gen *parC* mampu mendeteksi isolat *Salmonella* sp dari sampel susu. Hasil filogenetik menunjukkan bahwa isolat yang diuji berkerabat dekat dengan *Salmonella* Typhi O BLK Yogyakarta. Penanda indigenus gen *parC* sudah cukup sensitif, tetapi perlu dikembangkan agar lebih spesifik untuk *Salmonella*

Kata kunci : *Salmonella* sp, PCR, Gen *parC*, Susu sapi

Identification of *Salmonella* sp Using Gene Marker *parC*

DEWI SETYANINGSIH SIDHARTA

Abstract

The presence of *Salmonella* sp has been detected from milk sample from Yogyakarta and the isolate has been identified as *Salmonella* sp based on its biochemical characteristics, and it also has similarities to *Salmonella* Typhi NCTC786 based on its nucleotide sequence. This research is conducted with the objective to molecularly identify this isolate using specific primer for *Salmonella* sp targeting *parC* gene. Firstly, sensitivity assay was done in order to determine the resistance of the isolate against ciprofloxacin and nalidixic acid. After DNA isolation was done, it is then sequenced and the resulted sequence was subsequently analysed by mean of sequences alignment. It is found out that the suspected *Salmonella* spp was convincingly identified as salmonellae member based on its *parC* gene. The phylogenetic tree showed the isolate is included as the same cluster with most of *Salmonella* spp members, separated with another cluster where the *E. coli* located. This result showed isolate *Salmonella* sp has similarities with *Salmonella* Typhi O BLK Yogyakarta. This also shows sensitivity of the newly designed primer targeting *parC* in determining the identity of *Salmonella* sp.

Keywords: *Salmonella* sp, PCR, *parC* gene, Cow milk

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Salmonella merupakan kelompok bakteri penyebab *foodborne-disease*. Oleh karena itu keberadaan bakteri tersebut pada bahan pangan penting untuk diperhatikan. Diketahui terdapat tiga jenis *Salmonella* yang memiliki *host* pada manusia, yaitu *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A, dan *Salmonella* Paratyphi C. Infeksi *Salmonella* bisa terjadi karena seseorang mengkonsumsi makanan dan minuman yang sudah terkontaminasi oleh bakteri tersebut terutama yang terkontaminasi oleh feses atau urine, bisa juga melalui makanan yang terbuat dari hewan yang sudah terinfeksi. Selain memiliki *host* pada manusia, terdapat juga jenis *Salmonella* yang memiliki *host* pada unggas dan hewan ternak (Porier *et al.*, 2008). Pada ayam terdapat jenis *Salmonella* Galinarum, *Salmonella* Typhimurium pada sapi terdapat jenis *Salmonella* Dublin, pada babi terdapat jenis *Salmonella* Choleraesuis, jenis *Salmonella* Equi terdapat pada kuda, dan *Salmonella* A bortus ovis pada kambing dan domba. Selain menyerang unggas dan ternak, bakteri ini juga mengkontaminasi bahan pangan seperti telur, daging, ikan, buah, sayur mentah atau dimasak kurang matang. (Poeloengan *et al*, 2014)

Food and Drug Administration (FDA) (2012) melaporkan bahwa antara tahun 1993 dan 2006, telah terjadi kasus lebih dari 1500 orang di Amerika Serikat menderita sakit setelah mengkonsumsi susu mentah atau keju yang terbuat dari susu mentah. Pada tahun 2013, menurut studi yang dilakukan oleh Australian National University (ANU), terdapat lebih dari 160 orang di Canberra yang mengalami keracunan akibat kontaminasi bakteri *Salmonella* pada saus mayones yang mengandung telur mentah. Data penelitian terdahulu menemukan *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhi*, dan *Salmonella* Typhimurium pada susu kambing (Batoana, 2015), *Salmonella* Choleraesuis sp choleraesuis, *Salmonella* Choleraesuis sp Arizonae, dan *Salmonella* spp pada susu yang dijual di cafe (Correia, 2015), *Salmonella* sp arizonae dan *Salmonella* spp pada susu segar yang dijual oleh pedagang kaki lima (Sari, 2015). Ditemukannya isolat *Salmonella* tersebut, menjadi data pendukung yang memperkuat bukti bahwa kontaminasi bersumber dari petani peternak sapi perah. Salah satu isolat yang berhasil diisolasi dari tempat penampungan susu asal peternak sapi perah adalah isolat *Salmonella* sp (Gadi, 2010) yang akan diidentifikasi dalam penelitian ini. Tidak hanya itu, *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi dan *Salmonella* Typhimurium juga berhasil diisolasi dari es teh (Saputra, 2015). Isolat yang ditemukan pada sampel susu dan es teh tersebut diketahui memiliki gen *invA* dan *spvC*. Dengan terdeteksinya kedua gen tersebut pada isolat *Salmonella*, maka diduga isolat tersebut memiliki sifat patogen dan berpotensi untuk menyebabkan infeksi.

Berdasarkan penelitian terdahulu, isolat *Salmonella* sp asal susu telah teridentifikasi sebagai *Salmonella* spp menggunakan kit API 50 CHE dengan nilai kepercayaan sebesar 99% (Gadi, 2010) dan memiliki kemiripan terhadap *Salmonella* Typhi NCTC 786 dengan nilai similaritas sebesar 75,5% (Budiarso dan Amarantini, 2012). Untuk dapat memastikan identitas isolat *Salmonella* sp diperlukan analisis secara molekuler. Berkaitan dengan pemilihan penanda molekuler, penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Agnes (2015) berhasil membuktikan bahwa gen *parC* merupakan penanda yang handal untuk mengetahui hubungan kekerabatan diantara isolat *Salmonella*. Amarantini dan Satwika (2015) berhasil membuat sepasang primer *parC* asal isolat indigenus Indonesia yang secara spesifik mampu mengamplifikasi gen target *parC* sepanjang 315 bp pada berbagai strain *Salmonella* sp, terutama *Salmonella* Typhi dan terbukti dapat memilahkan dengan spesies lain yang berkerabat dekat seperti *E. coli*. Atas dasar temuan tersebut, maka dipandang penting untuk menguji potensi gen *parC* tersebut sebagai penanda molekuler untuk mengidentifikasi isolat *Salmonella* sp dari bahan pangan.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah primer yang menargetkan gen *parC* berdasar isolat indigenus dapat digunakan sebagai marka untuk identifikasi isolat *Salmonella* sp.

1.3. Tujuan

1.3.1. Mengidentifikasi isolat *Salmonella* sp menggunakan penanda gen *parC*

1.3.2. Mengetahui potensi penanda gen *parC* dalam mengidentifikasi hubungan kekerabatan antar *Salmonella*

1.4. Manfaat penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui potensi primer gen *parC* yang bermanfaat sebagai penanda secara spesifik yang digunakan untuk mengidentifikasi kekerabatan isolat *Salmonella* sp pada bahan pangan.

©UKDW

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. KESIMPULAN

- 5.1.1. Berdasarkan hasil filogenetik yang terbentuk, isolat *Salmonella* sp strain PTKWM mempunyai kekerabatan yang dekat dengan *Salmonella* Typhi O BLK Yogyakarta.
- 5.1.2. Berdasarkan hasil pohon filogenetik, gen *parC* dapat digunakan sebagai penanda kekerabatan antar spesies *Salmonella*

5.2. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membuat primer *parC* yang dapat memisahkan *Salmonella* yang mempunyai sifat resisten dan sensitif terhadap antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agnes. 2015. Identifikasi *Salmonella* sp yang Bersifat Resisten Terhadap Asam Nalidiksat Menggunakan Penanda QRDR [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta [Indonesia]
- Amarantini C, Budiarmo TY, Djoatmodjo S. 2011. Analisis Keanekaragaman Mikrobial dengan Menggunakan Pendekatan Metode Sistematis Numerik: Studi pada Bakteri Anggota Famili Enterobacteriaceae.
- Amarantini C, & Satwika D. 2015. Amino Acids Variation At *parC* Gene Of Clinical *Salmonella* Typhi Isolates. In Proceeding of International Conference On Research, Implementation And Education Of Mathematics And Sciences (pp. B29–B33). Retrieved from http://eprints.uny.ac.id/20886/1/charis_29-34_.pdf
- Amarantini C, Satwika D. 2016. Primer Designing for Molecular Detection of *Salmonella* spp Based on *parC* Gene. Proceeding 3rd International Conference on Research, Implementation And Education of Mathematics And Science. Yogyakarta [Indonesia]
- Amarantini C, & Budiarmo TY. 2013. 16S rDNA Typing of *Salmonella* Typhi Strains from Different Geographical Locations in Sumba Island East, Nusa Tenggara, Indonesia. *Microbiology Indonesia*, 7(1), 17–23. <http://doi.org/10.5454/mi.7.1.3>
- Batoana GIEU. 2015. Deteksi Molekuler Bakteri *Salmonella* sp pada Susu Kambing Peranakan Etawa Di Kabupaten Sleman, Yogyakarta [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta [Indonesia]
- Budiarmo TY, & Amarantini C. 2012. Diversity analysis of *Salmonella* isolates from food samples : compared with the diversity of *Salmonella* typhi of human cases, 1(5).
- Brinkman FSL & Leipe Detlef D. 2001. Phylogenetic Analysis. Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Second Edition 0-471-22392-1(Electronic)
- Correia DC. 2015. Deteksi *Salmonella* sp pada Susu Sapi dengan Multiplex-PCR Menggunakan Penanda Gen *invA* dan *spvC* [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta [Indonesia]
- Fabrega A., Madurga S, Giralt E, Vila J. 2009. Mechanism of Action of and Resistance to Quinolones. *Microb Biotechnology* 2(1), 40-61
- FDA. 2012. The Dangers of Raw Milk: Unpasteurized Milk Can Pose a Serious Health Risk. <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm079516.htm>
- Freeman BA. 1979. Burrows Textbook of Microbiology. 21th Ed W.B. Saunders Company. Chapter 19: 518.
- Gadi EV. 2010. Deteksi *Salmonella* sp Pada Susu Mentah dan Lingkungan Sekitar Peternakan di Kelompok Peternak Koperasi Warga Mulya Kabupaten Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta [Indonesia]
- Gharib, Ahlam A & Norhan K Abd El-Aziz. 2013. Molecular Analysis of Quinolone Resistance-Determining Regions in Avian Pathogenic *Escherichia coli*. *International Journal of Advanced Research* (2013), Volume 1, Issue 8, 145-157
- Koneman EW, Allen SD, & Janda, WM Schreckenberger PC. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins.
- Mordechai E. 1999. Application of PCR The methodologies in Molecular Diagnostic. Burlington Country, USA
- Poeloengan M, Komala I, & Noor SM. 2001. Bahaya *Salmonella* terhadap kesehatan. *Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis*, (30), 216–224.
- Poirier E, Watier L, Espie E, Weill FX., De Valk H, & Desenclos JC. 2008. Evaluation of the impact on human salmonellosis of control measures targeted to *Salmonella* Enteritidis and Typhimurium in poultry breeding using time-series analysis and intervention models in France. *Epidemiology and Infection*, 136(9), 1217–24. <http://doi.org/10.1017/S0950268807009788>
- Tamura K, Kumar S, Stecher G. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger data sets. *Mol Biol Evol.* 33(7):1870–1874.
- Sambrook J, Fritsch EF, & Maniatis T. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbour Lab. CSH, New York.
- Sari DR. 2015. Tingkat Kontaminasi *Salmonella* sp pada Susu Segar yang dijual oleh Pedagang Kaki Lima di Yogyakarta [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta. [Indonesia]
- Saputra D. 2015. Deteksi Molekuler *Salmonella* sp pada Minuman Es Teh yang Dijual di Kota Yogyakarta [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta [Indonesia]