

**Karakterisasi Biokimia dan Molekuler Isolat
Staphylococcus aureus dari Produk Susu Segar**

Skripsi



**MARIA IRENE IRWANTO
31110010**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2015**

Karakterisasi Biokimia dan Molekuler Isolat *Staphylococcus aureus* dari Produk Susu Segar

Skripsi

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



MARIA IRENE IRWANTO
31110010

Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2015

Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

KARAKTERISASI BIOKIMIA dan MOLEKULER ISOLAT

Staphylococcus aureus dari PRODUK SUSU SEGAR

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

MARIA IRENE IRWANTO

31110010

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 September 2015

Nama Dosen

Tanda Tangan

1. Tri Yahya Budiarmo S.Si, M.P
(Ketua Tim)

2. Dr. Dhira Satwika, M.Sc
(Dosen Penguji)

3. Dr. Charis Amarantini, M.Si
(Dosen Penguji)

Yogyakarta, 25 September 2015

Disahkan Oleh:

Dekan,

Drs. Kisworo, M.Sc

Ketua Program Studi,

Dr. Dhira Satwika, M.Sc.

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Maria Irene Irwanto

NIM : 31110010

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul :

"Karakterisasi Biokimia dan Molekuler Isolat *Staphylococcus aureus* dari Produk Susu Segar"

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 September 2015


Maria Irene Irwanto

Kata Pengantar

Puji Syukur kepada Tuhan Yesus Kristus, karena berkat dan kasih karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan laporan skripsi dengan baik dan tepat pada waktunya. Penyusunan laporan skripsi mengenai “*Karakterisasi Biokimia dan Molekuler Isolat Staphylococcus aureus dari Produk Susu Segar*” merupakan syarat wajib untuk memperoleh gelar sarjana sains (S.Si) Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.

Penyusunan laporan skripsi ini disusun berdasarkan survey dan observasi di lapangan serta penelitian di Laboratorium Biologi Industri, Universitas Kristen Duta Wacana yang dimulai pada tanggal 1 Maret – 20 Juni 2015. Penulis menyadari penyelesaian proses pembuatan laporan ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak selama penyusunan melakukan pengamatan lapangan. Dengan ini penyusun mengucapkan terimakasih kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus atas perlindungan dan berkatNya sampai penulis dapat menyelesaikan dengan baik.
2. Drs. Kisworo, MSc, selaku Dekan Fakultas Bioteknologi yang memberikan dukungan, dorongan dan motivasi.
3. Tri Yahya Budiarto, S.Si, MP, selaku Dosen Pembimbing serta Dosen Penguji I yang sudah memberikan pengarahan, dukungan, dan kesabaran, serta bersedia meluangkan banyak waktu sehingga penelitian skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Dr. Dhira Satwika, M.Sc, selaku pembimbing II serta Dosen Penguji II yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan pengarahan dan bimbingannya.
5. Dr. Charis Amarantini, M.Si, selaku Dosen Penguji III yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan pengarahan dan bimbingannya.
6. Keluarga saya, Papa, Mama dan Elia yang selalu memberikan doa dan support baik secara materi maupun rohani.
7. Para laboran Kak Dewi, Mas Day, Mas Setyo, Mbak Retno dan Om Is yang setia membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
8. Sahabat-sahabat tercinta Sari, Icha, Ilona, Mertha, Dircia, Daniel dan rekan-rekan fakultas bioteknologi 2011 serta orang-orang yang saya kasihi yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Akhirnya penulis berharap semoga semua pihak yang terlibat dalam penyusunan laporan mendapat karunia dan berkat berlimpah. Penulis menyadari dengan segala kerendahan hati bahwa dalam penyusunan laporan skripsi ini masih ada kekurangan dan masih jauh dari

kesempurnaan sehingga diperlukan saran dan kritik yang membangun. Saya sangat berharap laporan ini bermanfaat bagi semua pihak, dan pembelajaran bagi penulis selanjutnya.

Yogyakarta, 25 September 2015

Penulis

©UKDW

“Terpujilah nama ALLAH dari selama-lamanya sampai selama-lamanya sebab dari pada Dialah hikmat dan kekuatan ! “

Daniel 2:20

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk :

Tuhan Yesus Kristus

Orang tua

Keluarga Besar

Sahabat-sahabat

Orang yang saya kasihi, cintai dan sayangi

dan

Pembaca

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	2
C. Rumusan Masalah	2
D. Batasan Masalah	2
E. Manfaat Penelitian	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Deteksi cemaran <i>Staphylococcus aureus</i> pada produk susu segar....	3
B. Kasus Penyakit akibat <i>Staphylococcus aureus</i>	3
C. Karakterisasi secara Biokimiawi dan Molekuler <i>S. aureus</i>	4
BAB III. METODOLOGI RISET	
A. Waktu dan Tempat Penelitian	8
B. Alat	8
C. Bahan	8
D. Cara Kerja.....	8
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Deteksi <i>Staphylococcus</i> sp	11
B. Karakterisasi Biokimiawi dan Molekuler Isolat <i>S. aureus</i>	14
BAB V. PENUTUP	
A. Kesimpulan	21
B. Saran	21
DAFTAR PUSTAKA.....	22
LAMPIRAN	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kenampakan koloni pada medium BPA.....	11
Gambar 2. Pemurnian dengan medium BPA.....	14
Gambar 3. Uji dengan medium MSA.....	15
Gambar 4. Uji dengan Maltose broth.....	16
Gambar 5. Uji koagulase dan katalase.....	17
Gambar 6. Morfologi <i>S.aureus</i> perbesaran 1000x.....	17
Gambar 7. Uji konfirmasi dengan API Staph.....	18
Gambar 8. Hasil visualisasi amplifikasi DNA menggunakan <i>sea</i> pada target 120 bp.....	20

©UKDWN

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi media.....	25
Lampiran 2. Bagan alir cara kerja penelitian.....	27
Lampiran 3. Bagan alir cara kerja dengan API STAPH.....	28
Lampiran 4. Hasil identifikasi API STAPH.....	29
Lampiran 5. Cara kerja ekstraksi DNA.....	32

©UKDWN

Karakterisasi Biokimia dan Molekuler Isolat *Staphylococcus aureus* dari Produk Susu Segar

MARIA IRENE IRWANTO

31110010

**Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta
Jl. Dr. Wahidin, S. No 5-25 Yogyakarta 55224 Telp: +62274563929, Fax: +62274513235**

Staphylococcus aureus diketahui sebagai mikroflora normal dan pada kondisi sanitasi yang buruk, kelompok ini dapat bersifat patogen yang menyebabkan intoksikasi dengan memproduksi enterotoksin tahan panas dalam susu segar. Jenis enterotoksin A sering ditemukan di seluruh dunia pada bahan pangan khususnya susu segar. Susu segar sendiri merupakan salah satu wisata kuliner yang populer di kota Yogyakarta. Tujuan penelitian ini adalah melakukan deteksi dan karakterisasi secara biokimiawi serta molekuler terhadap cemaran *S. aureus* dari sampel susu pedagang kaki lima dan kafe di Yogyakarta. Sejumlah 25 sampel ditumbuhkan dalam medium *enrichment* menggunakan *Brain Heart Infusion broth* (BHI broth), kemudian diisolasi ke dalam medium *Baird Parker Agar* (BPA). Tipikal koloni *Staphylococcus* pada BPA diseleksi menggunakan *Manitol Salt Agar*, pengecatan gram, uji *katalase*, uji *koagulase*. Dalam studi ini didapatkan 79 koloni terduga yang memiliki tipikal *S.aureus*. Uji konfirmasi secara biokimia dengan menggunakan API-Staph didapatkan 4 isolat yang teridentifikasi sebagai *S. aureus* dan hanya 3 isolat yang memiliki enterotoksin staphylococcal tipe A berdasarkan pada uji secara molekuler dengan PCR pada target 120 bp.

Kata kunci : susu segar, staphylococcus aureus, enterotoksin A(sea), 120 bp

Biochemical and Molecular Characterization of Typical *Staphylococcus aureus* Isolates from Fresh Milk

MARIA IRENE IRWANTO

31110010

**Faculty of Biotechnology, Duta Wacana Christian University Yogyakarta
Jl. Dr. Wahidin, S. No 5-25 Yogyakarta 55224 Telp: +62274563929, Fax: +62274513235**

Staphylococcus aureus is a known as microfloranormal and in a bad sanitation could be pathogen is causing intoxication by producing thermostable enterotoxin in fresh milk. *Staphylococcal enterotoxin A* in one of enterotoxins commonly implicataed in foodborne poisoning that is found in dairy products, specially fresh milk. Fresh milk is one of popular culinary in Yogyakarta. The purposes of this research is to detect and doing characterization of biochemical and moleculer of *S. aureus* from sample fresh milk sold by street vendors and cafe. A total of 25 samples were collected, *enrichment* with *Brain Heart Infusion broth* (BHI broth) and isolation it on *Baird Parker Agar* (BPA)). Typical colonies on BPA were selected on *Manitol Salt Agar*, gram staining, carbohydrate fermentation test, *catalase* test and *coagulase* test. The result of this study only 79 colonies are identified as typical *S. aureus*. Biochemical confirmation test used API-Staph obtained 4 isolates are identified as *S. aureus* and 3 isolates has staphylococcal enterotoxin A based on moleculer test with PCR on 120 bp as the target.

Keywords : fresh milk, staphylococcus aureus, enterotoxin A(sea), 120 bp

Karakterisasi Biokimia dan Molekuler Isolat *Staphylococcus aureus* dari Produk Susu Segar

MARIA IRENE IRWANTO

31110010

**Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta
Jl. Dr. Wahidin, S. No 5-25 Yogyakarta 55224 Telp: +62274563929, Fax: +62274513235**

Staphylococcus aureus diketahui sebagai mikroflora normal dan pada kondisi sanitasi yang buruk, kelompok ini dapat bersifat patogen yang menyebabkan intoksikasi dengan memproduksi enterotoksin tahan panas dalam susu segar. Jenis enterotoksin A sering ditemukan di seluruh dunia pada bahan pangan khususnya susu segar. Susu segar sendiri merupakan salah satu wisata kuliner yang populer di kota Yogyakarta. Tujuan penelitian ini adalah melakukan deteksi dan karakterisasi secara biokimiawi serta molekuler terhadap cemaran *S. aureus* dari sampel susu pedagang kaki lima dan kafe di Yogyakarta. Sejumlah 25 sampel ditumbuhkan dalam medium *enrichment* menggunakan *Brain Heart Infusion broth* (BHI broth), kemudian diisolasi ke dalam medium *Baird Parker Agar* (BPA). Tipikal koloni *Staphylococcus* pada BPA diseleksi menggunakan *Manitol Salt Agar*, pengecatan gram, uji *katalase*, uji *koagulase*. Dalam studi ini didapatkan 79 koloni terduga yang memiliki tipikal *S.aureus*. Uji konfirmasi secara biokimia dengan menggunakan API-Staph didapatkan 4 isolat yang teridentifikasi sebagai *S. aureus* dan hanya 3 isolat yang memiliki enterotoksin staphylococcal tipe A berdasarkan pada uji secara molekuler dengan PCR pada target 120 bp.

Kata kunci : susu segar, staphylococcus aureus, enterotoksin A(sea), 120 bp

Biochemical and Molecular Characterization of Typical *Staphylococcus aureus* Isolates from Fresh Milk

MARIA IRENE IRWANTO

31110010

**Faculty of Biotechnology, Duta Wacana Christian University Yogyakarta
Jl. Dr. Wahidin, S. No 5-25 Yogyakarta 55224 Telp: +62274563929, Fax: +62274513235**

Staphylococcus aureus is a known as microfloranormal and in a bad sanitation could be pathogen is causing intoxication by producing thermostable enterotoxin in fresh milk. *Staphylococcal enterotoxin A* in one of enterotoxins commonly implicated in foodborne poisoning that is found in dairy products, specially fresh milk. Fresh milk is one of popular culinary in Yogyakarta. The purposes of this research is to detect and doing characterization of biochemical and molecular of *S. aureus* from sample fresh milk sold by street vendors and cafe. A total of 25 samples were collected, *enrichment* with *Brain Heart Infusion broth* (BHI broth) and isolation it on *Baird Parker Agar* (BPA)). Typical colonies on BPA were selected on *Manitol Salt Agar*, gram staining, carbohydrate fermentation test, *catalase* test and *coagulase* test. The result of this study only 79 colonies are identified as typical *S. aureus*. Biochemical confirmation test used API-Staph obtained 4 isolates are identified as *S. aureus* and 3 isolates has staphylococcal enterotoxin A based on molecular test with PCR on 120 bp as the target.

Keywords : fresh milk, *staphylococcus aureus*, enterotoxin A(sea), 120 bp

BAB I PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Staphylococcus aureus merupakan mikroflora normal pada permukaan tubuh manusia dan hewan. Adanya kontak langsung antara tangan pekerja dengan ambing hewan dapat menjadi media kontaminasi pada saat proses pemerahan. Pada beberapa kasus hewan ternak yang terkena mastitis atau peradangan pada bagian ambing, seringkali didominasi oleh kelompok *S. aureus*. Sapi yang mengalami mastitis subklinis tidak terdeteksi oleh peternak sehingga sapi tetap diperah. Hal ini akan meningkatkan resiko kontaminasi *S. aureus* pada susu. Secara alami dalam habitatnya, kelompok bakteri *S. aureus* berduplikasi dengan cepat pada suhu antara 7 °C sampai 48.5° (Joelle *et al.*, 2009, Schmitt *et al.*, 1990, Valero *et al.*, 2009). Kandungan nutrisi yang lengkap pada susu, sangat mendukung pertumbuhan *S.aureus* yang sangat cepat dan dapat mensintesis enterotoksin. Pada umumnya *S.aureus* memiliki enterotoksin yang termostabil dan dapat membahayakan kesehatan. Gejala yang ditimbulkan seperti mual, muntah dan diare.

Susu segar merupakan produk olahan berupa minuman yang sangat populer dan menjadi salah satu tujuan wisata kuliner di kota Yogyakarta. Produk minuman susu segar dapat ditemukan atau dijumpai di pedagang kaki lima (PKL) dan kafe. Kedua lokasi ini sangat dapat diamati perbedaannya terutama pada saat penyimpanan produk. Menurut hasil observasi yang dilakukan, pedagang kaki lima cenderung lebih sederhana dalam menyimpan dan mengelola produk susu yang akan disajikan. Produk susu biasanya hanya diletakkan dalam wadah terbuka, ketika ada pembeli baru dilakukan pemanasan dengan waktu yang diperkirakan oleh pedagang hingga susu dirasakan siap untuk disajikan, dengan kata lain tidak ada batasan waktu maupun indikator yang dipakai dalam melakukan sebuah tahap pemanasan. Pada tahap pemanasan inilah yang seharusnya menjadi poin penting dalam memperbaiki kualitas susu karena tahap ini cukup efektif mengurangi tingkat kontaminasi *S. aureus*. Selain pada tahapan pemanasan, kontaminasi juga dapat diminimalisir dengan penggunaan alat untuk menyajikan seperti sendok dan gelas karena PKL cenderung memiliki sumber air yang terbatas sehingga pedagang mencuci peralatan *seadanya*. Pedagang dengan konsep kafe lebih baik dalam hal persiapan, hingga pendistribusiannya ke konsumen. Produk susu yang akan disajikan terlebih dahulu diletakkan pada wadah tertutup dan dijaga pada suhu rendah untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Peralatan yang dipakai juga cenderung lebih bersih karena di setiap kafe pasti ada sumber air mengalir sehingga memudahkan untuk mencuci peralatan. Hal ini membuat penulis tertarik untuk melakukan deteksi cemaran *S. aureus* terhadap produk susu segar yang telah diolah dan

dijual di PKL atau kafe di daerah Yogyakarta. Selain itu melakukan karakterisasi isolat *S. aureus* secara biokimia maupun molekuler.

B. TUJUAN

1. Melakukan deteksi cemaran *Staphylococcus aureus* pada produk susu segar
2. Melakukan karakterisasi secara biokimia dengan Api-Staph dan molekuler dengan deteksi gen *sea* dari *Staphylococcus aureus* sebagai rujukan untuk mengetahui kualitas produk susu segar

C. PERUMUSAN MASALAH

Kontaminasi *S.aureus* pada susu segar dapat berasal dari proses pemerahan, tangan pekerja yang kurang bersih, ambing yang kurang bersih, maupun peralatan pendukung yang dilakukan pada saat pemerahan. Proses pemanasan (pasteurisasi) yang dilakukan oleh PKL dan Kafe terkadang belum sempurna sehingga memungkinkan cemaran *S. aureus*, masih terdapat pada produk susu segar. Karakter secara biokimia dan molekuler juga menjadi sasaran yang dikaji untuk melihat tingkat patogenitas isolat yang didapatkan. Hal ini menjadikan produk susu menarik untuk diteliti lebih lanjut, apakah produk susu yang beredar di pasaran layak dikonsumsi atau tidak.

D. BATASAN MASALAH

Dalam penelitian ini akan dilakukan deteksi cemaran kelompok bakteri *Staphylococcus aureus*. Melihat karakter secara biokimia dan karakter molekuler dari isolat yang memiliki gen enterotoksin tipe A. Jumlah sampel yang diteliti sebanyak 25 sampel diambil secara acak dari kafe susu maupun pedagang kaki lima (PKL) di daerah Yogyakarta.

E. MANFAAT PENELITIAN

Penelitian bertujuan untuk mendeteksi tingkat kontaminasi yang terdapat dalam produk susu segar di daerah Yogyakarta. Dengan demikian dapat diketahui tingkat keamanan produk susu segar untuk dikonsumsi. Memperoleh isolat lokal *Staphylococcus aureus* penghasil enterotoksin A dari produk susu segar, sehingga dapat digunakan untuk studi di bidang mikrobiologi pangan. Manfaat lain yang diperoleh untuk menambah wawasan mengenai cemaran apa saja yang mungkin terdapat pada produk susu segar dapat juga menjadi rekomendasi untuk para pedagang agar lebih memperhatikan kualitas susu.

BAB V

KESIMPULAN & SARAN

KESIMPULAN

1. Hasil deteksi cemaran *S. aureus* didapatkan koloni terduga sebanyak 79 dari total 2779 koloni. Pada tahap skrining didapatkan 16 isolat, dan hanya 6 isolat yang memiliki aktivitas koagulase positif kemudian diambil untuk diuji dengan Api-Staph.
2. Hasil pengujian secara biokimia menggunakan Api-Staph didapatkan 3 isolat teridentifikasi sebagai *S. aureus* 97,8% yaitu isolat SM 1.2.1, SM 2.1.1, SM 3.2.3) dan *S. aureus* 86,7 % isolat SM 3.1.4). Hasil pengujian secara molekuler dengan mendeteksi gen enterotoksin A (*sea*), didapatkan 3 isolat positif dan semua isolat berasal dari PKL di Yogyakarta

SARAN

1. Pedagang baik PKL maupun kafe lebih memperhatikan treatment pemanasan dan berhak meminta surat keterangan kualitas susu dari pemasok.
2. Treatment pemanasan hendaknya dilakukan secara tepat, serta proses penyimpanan sebelum disajikan kepada konsumen.
3. Menjaga wadah susu tetap rapat dan tidak terpapar langsung dengan kondisi sekitar akan lebih meminimalisir cemaran bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Tabib H, Yean CY, Al-Khateeb A and Ravichandran M. 2013 Comparative Evaluation of Three Different Methods of Genomic DNA Extraction for *Staphylococcus aureus*. World Appl Journal of Science ISSN 1818-4952. Accessed 24 Juli 2015
- API-Staph REF 20 500, bioMérieux, Inc. 2002. Identification system for *staphylococci*, *micrococci*, and related genera.
- Argudín MÁ, Mendoza MC and Rodicio MR. (2010). Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751–1773. <http://doi.org/10.3390/toxins2071751>
- Joelle C, Carl K W and James S C. 2009. Quantitative Microbial Risk Assessment for *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus* Enterotoxin A in Raw Milk. Accessed 20 September 2014.
- De Buyser ML, Dufour B, Maire M and Lafarge V. 2001 Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *Int J Food Microbiol* 67:1–17
- Gotz F, Bannerman T and Schleifer KH. 2006. The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. Review Journal Chapter 1.2.1 http://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_1.x
- Jørgensen HJ, Mork T, Høgåsen HR and Rørvik LM. 2005. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway. *Journal of Applied Microbiology*, 99(1), 158–166. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02569.x>
- Junni T, Rong Z, Juan C, Yanying Z, Cheng T, Hua Y, Jian L, Qiong W and Hui S. 2014. Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food markets. *Ann Microbiol*. Accessed 20 November 2014
- Le Loir Y, Baron F and Gautier M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res* 2(1):63–76
- Langlois BE, Harmon RJ and Akers K. 1983. Identification of *Staphylococcus* species of bovine origin with the API Staph-Ident system. *Journal of Clinical Microbiology*, 18(5), 1212–1219.
- Marshall, R. T. (ed.). 1993. Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C
- Morandi S, Brasca M, Andrighetto C, Lombardi A and Lodi R. 2009. Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains from Italian dairy products. *International Journal of Microbiology*, 2009. <http://doi.org/10.1155/2009/501362>
- Murdiati TB. 2004. Advanced and Management of Chemical Use in Farm Practices. Proceedings of the 4th Asian Conference on the Food, and Nutrition Safety Organized by ILSI, FAO and Bogor Agricultural University. p. 86–96.
- Pelisser MR, Klein CS, Ascoli KR, Zotti TR and Arisil ACM. 2009. Occurrence of *Staphylococcus aureus* and multiplex PCR detection of classic enterotoxin genes in cheese and meat products. *Brazil J Microbiol* 40:145–148
- Pitt W M, Harden T J and Hull R R. 2000. Investigation of the antimicrobial activity of raw milk against several foodborne pathogens. *Milchwissenschaft*; 55:249-252.
- Parker, ACB. 1962. An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase-positive staphylococci. *J. Appl. Bacteriol.* 25, 12
- Rall VLM, Vieira FP, Rall R, Vieitis R L, Fernandes A, Candeias JMG and Araujo JJP. 2008. PCR detection of staphylococcal enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw and pasteurized milk. *Veterinary Microbiology*, 132(3-4), 408–413. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.05.011>. Accessed 20 Juni 2015
- Narmeen SM, Jaladet MS and Jubrael. 2009. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* using classical and molecular methods. *J. Duhok Univ* Vol. 12, No. 1 (Special Issue)
- Schmitt M, Schuler-Schmid U and Schmidt-Lorenz W. 1990. Temperature limits of growth, TNase production and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *International Journal of Food Microbiology*; 11:1-20

- Silva WPD, Destro MT, Landgraf M and Franco DGM. 2000. Biochemical Characteristics of Typical and atypical *Staphylococcus aureus* in Mastitic Milk and Environmental Samples of Brazilian Dairy Farms. Brazilian Journal of Microbiology. ISSN 1517-8382
- Smith JL, Buchanan RL and Palumbo SA. 1982. Effect of food environment on *staphylococcal* enterotoxin synthesis: review. J Food Protection 46: 545-555.
- U.S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2005. Grade "A" pasteurized milk ordinance (2005 revision). Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~ear/pmo05-4.html>. Accessed 15 December 2008.
- Valero A, Pérez-Rodríguez F, Carrasco E, Fuentes-Alventosa J M, García-Gimeno R M and Zurera G. 2009. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. International Journal of Food Microbiology; 133:186-194

©UKNDW