

**MONITORING *Enterobactersp* PADA SUSU SAPI MENTAH DI TEMPAT
PENAMPUNGAN SUSU KABUPATEN SLEMAN YOGYAKARTA**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si)



disusunoleh:

Hutri Catur Sad Winarni

31091198

**FAKULTAS BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
YOGYAKARTA**

2014

Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

MONITORING *Enterobacter* sp PADA SUSU SAPI MENTAH DI TEMPAT PENAMPUNGAN SUSU KABUPATEN SLEMAN YOGYAKARTA

telah diajukan dan dipertahankan oleh:


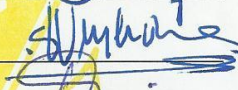

HUTRI CATUR SAD WINARNI
31091198

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 09 Desember 2013

Nama Dosen

Tanda Tangan

- | | | |
|---|---|---|
| 1. Tri Yahya Budiarso, S.Si, MP
(Dosen Pembimbing / Penguji / Ketua Tim) | : |  |
| 2. Dr. Charis Amarantini, M.Si
(Dosen Penguji) | : |  |
| 3. Dr. Dhira Satwika, M.Sc
(Dosen Penguji) | : |  |

DUTA WACANA

Yogyakarta, 24 Januari 2014

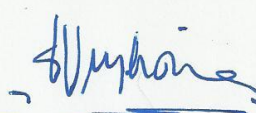
Disahkan Oleh:

Dekan,




Drs. Kisworo, M.Sc

Ketua Program Studi,



Dr. Charis Amarantini, M.Si

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Hutri Catur Sad Winarni

NIM : 31091198

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul, “**Monitoring *Enterobacter sp* pada Susu Sapi Mentah di Tempat Penampungan Susu Kabupaten Sleman Yogyakarta**” adalah hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam naskah dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Pernyataan ini dibuat dengan informasi yang benar secara sadar dan bertanggungjawab. Saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada sebelumnya.

Yogyakarta, 21 Januari 2014



Hutri Catur Sad Winarni
Hutri Catur Sad Winarni

NIM 31091198

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Monitoring *Enterobacter* sp pada Susu Sapi Mentah di Tempat Penampungan Susu Kabupaten Sleman Yogyakarta.”** Skripsi ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Sains, Minat Studi Biologi di Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta. Skripsi ini berhasil diselesaikan berkat bimbingan dan bantuan dari semua pihak. Untuk itu pada kesempatan ini dengan penuh kerendahan hati, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Yayasan Arsari Djojohadikusumo yang telah memberikan beasiswa kepada penulis sehingga penulis dapat melanjutkan studi dan meraih gelar S.Si di Fakultas Bioteknologi UKDW.
2. Drs. Kisworo, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.
3. Tri Yahya Budiarmo, S.Si,MP., selaku dosen pembimbing yang sudah meluangkan waktu untuk memberi bimbingan, bantuan, dan pengarahan sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi.
4. Dr. Charis Amarantini, M.Si., dan Dr. Dhira Satwika, M.Sc., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan masukan bagi penulisan skripsi.
5. Haryati Bawole Sutanto, selaku Dosen Wali yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan masukan bagi penulis.
6. Seluruh Dosen dan Staf Fakultas Bioteknologi untuk dukungan dan bantuan yang telah diberikan selama ini.
7. Laboran Laboratorium Biologi (Mas Setyo, Mas Hari, dan Mbak Retno) terimakasih untuk bimbingan, bantuan, dan waktunya selama penelitian di laboratorium.
8. Orangtuaku tercinta dan kakak-kakakku tersayang, yang selalu mencintai dan menyayangi, mendoakan, dan telah memberikan semangat kepada penulis.

9. Saudara-saudaraku terkasih yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan kepada penulis.
10. Sahabat-sahabatku, Marcella Indah K., Dewi Andini, Siska A. Larinda, dan Nathalia K. Utomo terimakasih atas persahabatan kita selama ini dan semoga abadi.
11. Teman-teman Laboratorium Mikrobiologi, Diah (Mbak Cinta), Burhan, Ratna, Kumar, Acha, Novi, dan Eva terimakasih untuk kebersamaannya selama ini.
12. Petrus K. A. Lahur, terimakasih atas doa dan dukungannya selama ini.
13. Teman-teman Bioteknologi 2009, terimakasih untuk kekompakan dan kebersamaannya kita selama ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga naskah skripsi ini bermanfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkannya.

Yogyakarta, Januari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT.....	xi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Karakteristik <i>Enterobacter</i> sp.....	4
B. Habitat <i>Enterobacter</i> sp.....	4
C. Kontaminasi <i>Enterobacter</i> sp pada Susu Mentah.....	6
D. Infeksi <i>Enterobacter</i> sp pada Manusia	8
E. Media untuk Deteksi <i>Enterobacter</i> sp	11
III. METODE PENELITIAN.....	15
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
B. Alat	15
C. Bahan	15
D. Metode Penelitian	16
E. Tahap Penelitian	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
A. Kesimpulan.....	30
B. Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perbedaan sifat/karakter beberapa spesies <i>Enterobacter</i>	5
2. Pasangan primer oligonukleotida untuk deteksi molekuler gen 16S rRNA <i>E. sakazakii</i>	14
3. Identifikasi isolat tersangka <i>Enterobacter</i> sp	21
4. Hasil identifikasi biokimia <i>Enterobacter</i> sp dari sampel susu sapi mentah	25
5. Hasil pengamatan total bakteri Coliform	45
6. Hasil pengamatan isolat tersangka <i>Enterobacter</i> sp	47
7. Hasil pengamatan uji biokimia aras genus <i>Enterobacter</i> sp	48
8. Hasil pengamatan uji biokimia aras <i>Enterobacter</i> sp	50
9. Hasil pengamatan uji API 20E	51

©UKDW

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pertumbuhan kandidat <i>Enterobacter</i> sp pada media CCA	22
2. Koloni kandidat <i>E. sakazakii</i> pada medium DFI	23
3. Hasil pengujian API 20E.....	26
4. Hasil amplifikasi dengan pasangan primer 16_SUNI-L/Saka-2b.....	28
5. Hasil amplifikasi dengan pasangan primer ESA 1/16_SUNI-R	28
6. Uji Motilitas	61
7. Uji Indol	61
8. Uji <i>Methyl Red</i>	61
9. Uji KCN	61
10. Uji Lisin dekarboksilase.....	61
11. Uji H ₂ S	61
12. Uji Sitrat	61
13. Uji Urease.....	61
14. Uji Tartrate Jordan's	61
15. <i>Enterobacter sakazakii</i> ATCC 51329 TM	61
16. Bagan identifikasi uji biokimia aras genus <i>Enterobacter</i> sp.....	62
17. Bagan identifikasi uji biokimia aras <i>Enterobacter</i> sp.....	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi media <i>enrichment</i> , isolasi, dan identifikasi	37
2. Komposisi media uji biokimia aras genus <i>Enterobacter</i>	37
3. Komposisi media uji biokimia aras <i>Enterobacter</i> sp.....	38
4. Komposisi reagen uji biokimia	39
5. Bagan alir penelitian	40
6. Hasil penelitian	45
7. Hasil uji API 20E.....	51
8. Hasil identifikasi uji API 20E.....	52
9. Foto uji biokimia aras genus dan spesies <i>Enterobacter</i>	61
10. Bagan identifikasi uji biokimia aras genus <i>Enterobacter</i>	62
11. Bagan identifikasi uji biokimia aras <i>Enterobacter</i> sp.....	63

©UKYDIN

Monitoring *Enterobacter* sp pada Susu Sapi Mentah di Tempat Penampungan Susu Kabupaten Sleman, Yogyakarta

Oleh:
Hutri Catur Sad Winarni
31091198

ABSTRAK

Enterobacter sp merupakan organisme yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. *Enterobacter* sp yang bersifat patogen yaitu *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Enterobacter sakazakii*. *Enterobacter sakazakii* adalah bakteri *opportunistic pathogen* yang dapat menyebabkan infeksi seperti *necrotizing enterocolitis*, *bacteremia*, dan *meningitis*. Susu sapi mentah memiliki resiko kontaminasi *Enterobacter* sp yang tinggi selama proses pemerahan, penyimpanan maupun pengangkutan. Penelitian ini bertujuan untuk monitoring kontaminasi *Enterobacter* sp pada sampel susu mentah di tempat penampungan susu Kabupaten Sleman Yogyakarta sebelum disetorkan ke pabrik.

Sampel susu sapi mentah sebanyak 30 diambil dari tempat penampungan susu di Kabupaten Sleman, Yogyakarta. Sampel kemudian ditumbuhkan dalam medium *Enterobacteriaceae Enrichment Broth* (EEB). Kultur bakteri di enumerasi dalam medium *Chromocult Coliform Agar* (CCA). Koloni tersangka *Enterobacter* sp diseleksi dalam medium selektif diferensial *Druggan-Forsythe-Iversen* (DFI). Isolat tersangka *E. sakazakii* kemudian dikonfirmasi dengan uji biokimia dan molekuler menggunakan uji API 20E dan deteksi gen 16S rRNA dengan pasangan primer 16_SUNI-L/Saka-2b dan ESA-1/16_SUNI-R.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 30 sampel susu sapi mentah ditemukan adanya kontaminasi *Enterobacter* sp. Jenis kontaminan yang ditemukan adalah *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. gergoviae*, dan *E. dissolvens*. Berdasarkan uji API 20E, 5 isolat teridentifikasi sebagai *Pantoea* spp 1, namun uji molekuler menunjukkan kelima isolat tersebut memiliki fragmen yang sama dengan *E. sakazakii*.

Monitoring of *Enterobacter* sp from Raw Cow's Milk in The Milk Storage Tank in Sleman Regency, Yogyakarta

By:
Hutri Catur Sad Winarni
31091198

ABSTRACT

Enterobacter sp is an organism from Enterobacteriaceae family. *Enterobacter* sp which is pathogen such as *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, and *Enterobacter sakazakii*. *Enterobacter sakazakii* is an opportunistic pathogen bacteria which can cause *necrotizing enterocolitis*, *bacteraemia*, and *meningitis*. Raw cow's milk has a high risk contamination of *Enterobacter* sp during milking process, storage, and also transportation. This research's aim is to monitor the contamination of *Enterobacter* sp from raw cow's milk in the milk storage tank in Sleman Regency before sent to the factory.

A total 30 samples of raw cow's milk was taken from the milk storage tank in Sleman Regency, Yogyakarta. After that the samples were grown in *Enterobacteriaceae Enrichment Broth* (EEB) medium. Culture bacteria were enumerated in *Chromocult Coliform Agar* (CCA) medium. Suspected colony of *Enterobacter* sp were selected in selective differential medium *Druggan-Forsythe-Iversen* (DFI). Isolate suspected *E. sakazakii* were later confirmed with biochemical test and molecular test used API 20E and detection 16S rRNA gene with primer pairs 16_SUNI-L/Saka-2b and ESA-1/16_SUNI-R.

The results showed that from 30 samples of raw cow's milk were found contamination *Enterobacter* sp. Contaminant species which detected were *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. gergoviae*, and *E. dissolvens*. Based on the API 20E test, 5 isolates were identified as *Pantoea* spp 1, but based on molecular analysis showed that five isolates had the same fragment with *E. sakazakii*.

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Enterobacter sp merupakan salah satu organisme dalam famili Enterobacteriaceae yang bersifat *opportunistic pathogen*. Beberapa spesies dari genus *Enterobacter* yang bersifat patogen antara lain *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, dan *Enterobacter aerogenes*. Edwards *et al.*, (1978) melaporkan terjadinya infeksi saluran pernapasan dan *bacteraemia* pada pasien pediatri yang disebabkan oleh *E. aerogenes*. Kasus *neonatal* pernah dilaporkan oleh Antony & Prasad (2011) yang terjadi pada bayi karena air yang digunakan untuk memandikan bayi terkontaminasi oleh *E. cloacae*. Kedua spesies ini dapat ditemukan pada lingkungan dan saluran pencernaan mamalia (Edwards *et al.*, 1978; John *et al.*, 1982).

Enterobacter sakazakii merupakan bakteri patogen oportunistis yang dapat menyebabkan berbagai macam infeksi, seperti *necrotizing enterocolitis*, *bacteraemia*, *meningitis*, dan *sepsis* (Muytjens *et al.*, 1983). *Enterobacter sakazakii* pertama kali diketahui dapat menyebabkan *meningitis* pada tahun 1958 di Inggris (Urmenyi & Franklin, 1961). Beberapa tahun terakhir (2000-2010) juga ditemukan adanya kasus yang disebabkan oleh *E. sakazakii* yaitu *meningitis* dan *neonatal* karena mengonsumsi susu formula (Block *et al.*, 2002; Ray *et al.*, 2007) dengan tingkat kematian antara 10 hingga 80% (van Acker *et al.*, 2001; Lai, 2001). Habitat alami *E. sakazakii* masih belum diketahui dengan pasti namun bakteri ini dapat diisolasi dari lingkungan, berbagai produk makanan, dan lebih sering ditemukan pada produk susu khususnya susu formula (Iversen *et al.*, 2004).

Kasus kontaminasi *E. sakazakii* pada susu formula dapat dikarenakan sanitasi lingkungan produksi yang buruk, ada kontaminasi pada alat produksi, terjadi proses produksi yang tidak steril, dan adanya kontaminasi silang yang terjadi setelah proses produksi. Industri pengolahan susu, pada umumnya memiliki sistem *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP). Dengan adanya sistem ini, maka terjadinya kontaminasi *E. sakazakii* pada alat produksi, proses produksi maupun sanitasi lingkungan sekitar pabrik susu dapat dicegah. Meskipun pabrik susu sudah mempunyai sertifikat HACCP, namun kasus kontaminasi pada susu formula bayi masih sering terjadi. Kemungkinan kontaminasi tersebut berasal dari bahan baku yang digunakan dalam pembuatan susu formula yaitu susu sapi mentah.

Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) merupakan sentra peternakan sapi perah, khususnya di Kabupaten Sleman. Susu sapi mentah dihasilkan oleh para peternak sapi perah rakyat yang masih menggunakan proses pemerahan tradisional. Proses pemerahan dengan cara tradisional seringkali kurang memperhatikan sanitasi lingkungan, baik sanitasi kandang maupun hewan ternak. *Enterobacter* sp yang hidup dalam saluran intestinal dapat keluar bersamaan dengan feses, adanya kontak langsung antara kotoran yang melekat pada tubuh sapi seperti lipatan paha dan ambing dapat mempengaruhi adanya kontaminasi *Enterobacter* sp yang terdapat dalam susu sapi mentah.

Penelitian mengenai *Enterobacter* sp dan *E. sakazakii* pada susu mentah sebelumnya sudah pernah dilakukan oleh Budiarmo dkk pada tahun 2007 dan Wahyuni & Budiarmo pada tahun 2009, hasil penelitiannya yaitu ditemukan

adanya *E. gergoviae*, *E. aerogenes*, dan *E. amnigenus* namun tidak ditemukan *E. sakazakii*. Meskipun pada penelitian tersebut tidak ditemukan adanya *E. sakazakii* pada susu mentah, namun bukan berarti bahwa susu mentah bebas dari *E. sakazakii* karena dengan kondisi yang telah disebutkan di atas sangat memungkinkan *E. sakazakii* terdapat pada susu mentah. Beberapa tahun terakhir monitoring pada susu mentah untuk mengetahui keberadaan *Enterobacter* sp, khususnya *E. sakazakii* belum dilakukan. Oleh karena itu, pada penelitian kali ini dilakukan untuk monitoring *Enterobacter* sp pada susu sapi mentah di tempat penampungan susu Kabupaten Sleman Yogyakarta.

B. Rumusan Masalah

Apakah susu sapi mentah di tempat penampungan susu Kabupaten Sleman Yogyakarta kemungkinan terkontaminasi *Enterobacter* sp.

C. Tujuan Penelitian

Melakukan pengamatan/pemantauan *Enterobacter* sp pada susu sapi mentah di tempat penampungan susu Kabupaten Sleman Yogyakarta dengan metode biokimia dan molekuler.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu menambah informasi mengenai adanya *Enterobacter* sp yang terdapat di dalam susu sapi mentah kepada masyarakat, khususnya kepada para peternak sapi perah agar lebih memperhatikan sanitasi hewan ternak dan lingkungan kandang. Selain itu juga dapat menambah basis data mengenai *Enterobacter* sp yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil pengamatan/pemantauan *Enterobacter* sp pada susu sapi mentah di tempat penampungan susu Kabupaten Sleman Yogyakarta ditemukan adanya spesies *Enterobacter*, yaitu *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. gergoviae*, dan *E. dissolvens*. Berdasarkan uji API 20E, ada 5 isolat sampel teridentifikasi sebagai *Pantoea* spp 1. Berdasarkan deteksi gen 16S rRNA, 5 isolat sampel tersebut menghasilkan fragmen yang sama dengan *E. sakazakii* ATCC 51329TM.

B. Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan sekuensing.
2. Sanitasi lingkungan dan hewan ternak harus lebih diperhatikan lagi agar dapat meminimalisir terjadinya kontaminasi bakteri *Enterobacter* sp.
3. Perilaku peternak dan pekerja yang berada di tempat penampungan susu harus menjaga sanitasi agar tidak terjadi kontaminasi mikrobia pada bahan pangan susu mentah.

DAFTAR PUSTAKA

- Arseni, A., Malamou-Ladas, E., Koutsia, C., Xanthou, M., Triikka, E. 1987. Outbreak of colonization of neonates with *Enterobacter sakazakii*. J Hosp Infect 9:143–150
- Bar-Oz, B., Preminger, A., Peleg, O., Block, C., Arad, I. 2001. *Enterobacter sakazakii* infections in the newborn. Acta Paediatr 90:356–358
- Baxter, S. I. F., Pow, I., Bridgen, A., Reid, H. W. 1993. Polymerase chain reaction detection of the sheep-associated agent of malignant catarrhal fever. Arch Virol 132: 145-159
- Beena, A., Prasad, BPM. R. 2011. An Outbreak of Neonatal Septicaemia by *Enterobacter cloacae*. Asian Pacific J of Trop Disease 227-229.
- Berglund, I., Pettersson, G., Svennerstensjaunja, K. 2002. Automatic Milking: Effect on somatic cell count and teat end-quality. Livestock Production Science 78: 115 – 124.
- Biomerieux. Identification System for Enterobacteriaceae and other gram negative bacteria. France: Biomerieux, Inc.
- Block C., Peleg O., Minster N., Bar-Oz B., Simhon A., Arad I., Shapiro M. 2002. Cluster of neonatal infections in Jerusalem due to unusual biochemical variant of *Enterobacter sakazakii*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 21:613–616
- Brenner, D. J., McWhorter, A., Kai, A., Steigerwalt, A. G., Farmer, J. J., III. 1986. *Enterobacter asburiae* sp. nov., a new species found in clinical specimens, and reassignment of *Erwinia dissolvens* and *Erwinia nimipressuralis* to the genus *Enterobacter* as *Enterobacter dissolvens* comb. nov. and *Enterobacter nimipressuralis* comb. nov. J of Clin Microbiol 23:1114–1120.
- Brenner, D. J., Richard, C., Steigerwalt, A. G., Asbury, M. A., Mandel, M. 1980. *Enterobacter gergoviae* sp. nov.: a new species of Enterobacteriaceae found in clinical specimens and the environment. Int J of Syst Bacteriol 30:1–6.
- Brown E, Alfred. 2005. Benson's Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology, 9th edition. The McGraw-Hill Companies, New York.
- Budiarso, T.Y., Sukmawati, N., Siregar, C.R. 2009. Deteksi Cemarkan *Enterobacter Sakazakii* Pada Susu Formula Bayi Dan Susu Mentah Di Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus: 3C (29–32)

- Carter, J. C. 1945. Wetwood of elms, III. Natural History Survey Bulletin. 23:407–448.
- Davin-Regli, A., Monnet, D., Saux, P., Bosi, C., Charrel, R., Barthelemy, A., Bollet, C. 1996. Molecular epidemiology of *Enterobacter aerogenes* acquisition: one-year prospective study in two intensive care units. J Clin Microbiol 34:1474–1480.
- De Champs, C., Henquell, C., Guelon, D., Sirot, D., Gazuy, N., Sirot, J. 1993. Clinical and bacteriological study of nosocomial infections due to *Enterobacter aerogenes* resistant to imipenem. J Clin Microbiol 31:123–127.
- Edwards, K. E., Allen, J. R., Miller, M. J., Yoger, R., Hoffman, P. C., Klotz, R., Marubio, S., Burkholder, E., Williams, T., Davis, A. T. 1978. *Enterobacter aerogenes* primary bacteremia in pediatric patients. Pediatrics 62:304–306.
- Erikson, Marlyn, C., Kornacki, Jeffrey, L. 2001. *Enterobacter sakazakii* : An emerging food pathogen. University of Georgia, Center For Food Safety. Griffin,GA.
- Farmer, J. J., III, Davis, B. R., Hickman-Brenner, F. W., McWhorter, A., Huntley-Carter, G. P., Asbury, M. A., Riddle, C., Wathen-Grady, H. G., Elias, C., Fanning, G. R., Steigerwalt, A. G., O'Hara, C. M., Morris, G. K., Smith, P. B., Brenner, D. J. 1985a. Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J of Clin Microbiol 21:46–76.
- Farmer, J. J., III, Fanning, G. R., Davis, B. R., O'Hara, C. M., Riddle, C., Hickman-Brenner, F. W., Asbury, M. A., Lowery, V. A., III, Brenner, D. J. 1985b. *Escherichia fergusonii* and *Enterobacter taylorae*, two new species of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J of Clin Microbiol 21:77–81.
- Farmer, J. J., Kelly, M. T. 1992. *Enterobacteriaceae*. Manual of Clin Microbiol 360–383.
- Food and Drug Administration. 2002. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula (serial online) Available from <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/mmesakaz.html>. Accessed 10 Januari 2012.
- Food and Drug Administration. 2005. Health professionals letter on *Enterobacter sakazakii* infections associated with use of powdered (dry) infant formulas in neonatal intensive care units. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/inf-ltr3.html>. Accessed 23 Oktober 2013.

- Food Safety Authority (Ministry for Primary Industries). 2005. *Enterobacter sakazakii* invasive disease. Available at: www.health.govt.nz/our-work/diseases-and-conditions/e-sakzakii. Accessed 5 Juni 2013.
- Food Safety Authority. 2006. Infant formula recall. Available at: <http://www.fsai.ie/alerts/archive/fa20050120.asp>. Accessed 13 Oktober 2013.
- Gilardi, G. L., Bottone, E. 1971. *Erwinia* and yellow pigmented *Enterobacter* isolates from human sources. *Antonie van Leeuwenhoek J of Microbiol and Serology* 37:529–535.
- Gonzalez, R.D., Tamagnini, L.M., Olmos, P.D., de Sousa G.B. 2003. Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat foods. *Food Microbiology* 20: 601–604
- Gran, H.M., Mutukumira, A.N., Wetlesen, A., Narvhus, J.A. 2002. Smallholder dairy processing in Zimbabwe: Hygienic practices during milking and the microbiological quality of the milk at the farm and on delivery. *Food Control* 13: 41 – 47.
- Grimont, F., Grimont A.D.P. 2006. The Genus *Enterobacter*. *Prokaryotes* 6:197–214
- Hassan, AA., Akineden, O., Kress, C., Estuningsih, S., Schneider, E., Usleber, E. 2007. Characterization of the gene encoding the 16s rRNA of *Enterobacter sakazakii* and development of a species-specific PCR methods. *Int J of Microbiol* 116 (2) : 243- 248.
- Himmelright, I., Harris, E., Lorch, V., Anderson, M., Jones, T., Craig, A., Kuehnert, M., Fotster, T., Arduino, M., Jensen, B., Jernigan, D. 2002. *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:297–300
- Holt, G., N. R. Krieg, Peter H. A. Sneath, James. T. S, Stanley. T. W, 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th Ed, A Wolters Kluwer Company. USA
- Iversen, C., Druggan, P., Forsythe, S. 2004. A selective medium for *Enterobacter sakazakii*, a preliminary study. *Int J Food Microbiol*, 96:133-139.
- Izard, D., Gavini, F., Leclerc, H. 1980. Polynucleotide sequence relatedness and genome size among *Enterobacter intermedium* sp. nov. and the species *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae*. *Zentralblatt für Bakteriologie, I Abt., Orig.* C1:51–60.

- James, G. Cappucinno, Sherman Natalie. 2008. Microbiology : A laboratory manual 8th edition. Pearson Education Publishing as Pearson Benjamin Cummings. Sansome St., san Francisco.
- John, J. F., Sharbaugh, R. J., Bannister, E. R. 1982. *Enterobacter cloacae*: bacteremia, epidemiology and antibiotic resistance. Review of Infectious Disease 4:13–27.
- Joker, R. N., Nørholm, T., Siboni, K. E. 1965. A case of neonatal meningitis caused by a yellow *Enterobacter*. Danish Medical Bulletin 12:128–130.
- Jordan, Harmon. 1928. Jordan's Tartrate Agar. J Infect Dis 42:238.
- Kandhai, M. C., Reij, M. W., Gorris, L. G. M., Guillaume-Gentil, O., Van Schothorst, M. 2004. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *Lancet*, 39–40.
- Lai, K.K. 2001. *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults. *Medicine* 80, 113–122.
- Leclercq, A., Wanequ, C., & Baylac, P. 2002. Comparison of fecal coliform agar and violet red bile lactose agar for fecal coliform enumeration in foods. *Appl and Environmental Microbiol*, 68, 1631–1638.
- Leverstein-van Hall, M. A., H. E. M. Blok, A. Paauw, A. C. Fluit, A. Troelstra, E. M. Mascini, M. J. M. Bonten, J. Verhoef. 2006. Extensive hospital-wide spread of a multidrug-resistant *Enterobacter cloacae* clone, with late detection due to a variable antibiogram and frequent patient transfer. *J Clin Microbiol* 44:518-524.
- Lind, O., A.H. Ipema, C. De Koning, T.T.Mottram, H.J. Hermann. 2000. Automatic Milking. Int Dairy Federation, Brussels, Belgium. Bulletin 348 : 1 – 14.
- Maki, D. G., Rhame, F. S., Mackel, D. C., Bennett, J. O. 1976. Nationwide epidemic of septicaemia caused by contaminated intravenous products. *Am J Med* 60:471-85.
- Mee-Marquet, N.V.D., Girard, S., Lagarrigue, F., Leroux, I., Voyer, I., Bloc, D., Besnier, J.M., Quentin, R. 2006. Multiresistant *Enterobacter cloacae* outbreak in an intensive care unit associated with therapeutic beds. *BioMed Central Ltd*. 10:405

- Muytjens, H. L., van der Ros-van de Repe, J., Druten, H. A. M. 1984. Enzymatic profiles of *Enterobacter sakazaki* and related species with special reference to the α -glucosidase reaction and reproducibility of the test system. J of Clin Microbiol 20:684–686.
- Muytjens, H.L., Zanen, H, Sonderkamp, H, Kollee, L, Wachsmuth, I, Farmer, J. 1983. Analysis of eight cases of neonatal meningitis and sepsis due to *Enterobacter sakazakii*. J Clin Microbiol 18:115–120
- Nazarowec-White, M., Farber J. 1997. *Enterobacter sakazakii*: a review. Int J Food Microbiol 34:103–113
- O’Hara, C. M., Steigerwalt, A. G., Hill, B. C., Farmer, J. J., III, Fanning, G. R., Brenner, D. J. 1989. *Enterobacter hormaechei*, a new species of Enterobacteriaceae formerly known as Enteric Group 75. J of Clin Microbiol 27: 2046–2049.
- Pien, F. D., Martin, W. J., Hermans, P. E., Washington, J. A., II. 1972. Clinical and bacteriologic observations on proposed species, *Enterobacter agglomerans* (Herbicola- Lathyri bacteria). Mayo Clinic Proceedings 47:739–745.
- Prats, G., Richard, C., Mirelis, B., Lopez, P. 1987. Human isolates of *Enterobacter intermedium*. Zentralblatt für Bakteriologie und Hygiene A266:422–424.
- Ray, B. 1996. *Fundamental Food Microbiology*, Boca Raton. New York.
- Ray, P., Das, A., Gautam, V., Jain, N., Narang, A., Sharma, M. 2007. *Enterobacter sakazakii* in infants: novel phenomenon in India. Indian J of Med Microbiol 25(4): 408-10
- Rombaut, R. 2005. Dairy microbiology and starter cultures. Laboratory of Food Technology and Engineering. Gent University, Belgium.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning – A Laboratory Manual*, 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Simmons, B. P., Gelfand, M. S., Haas, M., Metts, L., Ferguson, J. 1989. *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula. Infect Control Hosp Epidemiol 10:398–401
- Turner, K. M., Restaino, L., Frampton E. W. 2000. Efficacy of Chromocult Coliform Agar for *Coliform* and *Escherichia coli* Detection in Foods, J of Food Protection P: 63:4

- Urmenyi, A. M., Franklin, A. W. 1961. Neonatal death from pigmented coliform infection. *Lancet* 1:313–315
- van Acker, J., Smet, F.D., Muyldermans, G., Bouhgatef, A., Naessens, A., Lauwers, S. 2001. Outbreaks of Necrotizing Enterocolitis Associated with *Enterobacter sakazakii* in Powdered Milk Formula. *J of Clin Microbiol* 39: 293 – 297.
- von Graevenitz, A. 1970. *Erwinia* species isolates. *Annals of the New York Academy of Sciences* 174: 436–443.
- Wahyuni, A. E. T. H., Budiarmo, T. Y. 2009. Detection of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp from Dairy Cow's Milk in Boyolali and Sleman. The 1st International Seminar on Animal Industry 2009
- Weir, C.M., Laing, D. 2001. *Governance Structure, Director Independence and Corporate Performance in the UK*. *European Business Review*, 13, pp. 86-94. Coba cari judul jurnalnya
- Westblom, T. U., Coggins, M. E. 1987. Osteomyelitis caused by *Enterobacter taylorae*, formerly Enteric Group 19. *J of Clin Microbiol* 25:2432–2433.
- Willis J, Robinson JE. 1988. *Enterobacter sakazakii* meningitis in neonates. *Pediatr Infect Dis J* 7:196–199
- Woodford, N., Dallow, J. W., Hill, R. L., Palepou, M. F., Pike, R., Ward, M. E., Warner, M., Livermore, D. M. 2007. Ertapenem resistance among *Klebsiella* and *Enterobacter* submitted in the UK to a reference laboratory. *Int J of Antimicrobial Agents* 29(4): 456-9