

VERIFIKASI METODE UJI ANGKA ENTEROBACTERIACEAE PADA PRODUK SUSU DAN ANALOGNYA SESUAI SNI ISO 21528-2:2017

Fakhmi Rooslan Hamidi¹⁾, Dian Indah Octavianingtyas²⁾, Inis Nadawati³⁾,
Evy Ratnasari Ekawati⁴⁾

^{1),2),3)}Balai Besar POM di Surabaya

⁴⁾Prodi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif
Email: fakhmi.hamidi@pom.go.id

ABSTRACT

Enterobacteriaceae is a group of bacteria that inhabit the digestive tract of humans and animals, capable of causing nosocomial infections and potentially contaminating food products. Dairy products and their analogs are one of the routine food samples tested at the Testing Laboratory of the Balai Besar POM in Surabaya, whose quality and safety must be maintained for consumption by the public. One of the guarantees for the quality of test results is a test method that has been validated and verified. In this study, verification of the Enterobacteriaceae number test method was carried out with reference to SNI ISO 21528-2:2017. The results of the method verification were declared eligible, for the accuracy parameter, which was 102,26%, while for the precision parameter, it was 0,71% I. the sample group that was given the contamination (S+C) and 0,91% in the positive control group (K). It that be concluded that this method can be used in the Testing Laboratory of the Balai Besar POM in Surabaya.

Keywords: *Method verifications, Enterobacteriaceae, dairy products and their analogs*

PENDAHULUAN

Pangan berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan, air yang diolah maupun tidak diolah, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan dan bahan lainnya yang digunakan selama proses persiapan, pengolahan dan pembuatan makanan ataupun minuman (Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2019; Peraturan Pemerintah, 2019; Wiradayanti, 2020).

Susu segar merupakan produk peternakan yang berasal dari hasil pemerahan ternak sapi maupun kambing. Susu saat masih berada dalam kelenjar susu umumnya steril, namun kontaminasi pada susu dapat terjadi setelah keluar dari ambing, tubuh hewan ternak, debu di udara, peralatan yang kotor dan petugas

Pemerah (Elfriede et al., 2018; Hatta and Marmansari, 2014; Pradika et al., 2019).

Persyaratan susu dan produk susu harus berkualitas bagi konsumen terutama ditinjau dari segi *Kesehatan*. Konsumsi produk susu dan analognya berperan terhadap perpindahan berbagai macam bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia, seperti, diare, difteri, *scarlet fever*, dan tuberculosis (Bakri et al., 2015; Hatta and Marmansari, 2014; Tsai et al., 2022).

Produk susu dan analognya merupakan produk yang memiliki nilai potensial untuk dikembangkan, karena konsumsi produk oleh masyarakat terus meningkat. Persepsi terhadap suatu produk menjadi salah satu faktor tumbuhnya permintaan dan daya konsumsi masyarakat (Budiarso and Winarni, 2016; Suwito et al., 2019; Wanniatie et al., 2021).

Produk susu dan analognya dianggap sebagai produk sumber energi, menjadi pengganti makanan dan minuman bahkan menggantikan peran kudapan (*snack*) secara konvensional (Pradika *et al.*, 2019; Rusidah *et al.*, 2022).

Salah satu sampel pangan rutin yang diuji di Laboratorium Pengujian Balai Besar POM di Surabaya adalah produk susu dan analognya, yang harus terjaga mutu dan keamanannya untuk dikonsumsi oleh masyarakat (Owen *et al.*, 2010; Vidakovic Knezevic *et al.*, 2021). Produk ini rentan dan mudah mengalami kerusakan, sehingga harus dijaga dengan beberapa regulasi. Beberapa faktor yang perlu untuk diawasi adalah gizi, mutu, cemaran, bahan baku, bahan tambahan pangan (BTP), serta kemasannya (Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia, 2019; Refianto and Irdawati, 2020; Standard, 2017).

Enterobacteriaceae dikenal sebagai bakteri Gram negatif aerob dan anaerob fakultatif yang dapat memfermentasi glukosa menjadi asam. Bakteri patogen yang termasuk dalam kelompok ini diantaranya *Salmonella* sp., *Shigella* sp., dan *Yersinia*, serta kelompok coliform lainnya. Enterobacteriaceae telah digunakan hingga saat ini sebagai indikator kebersihan dalam menjaga kualitas dan keamanan makanan dan minuman (Kornacki *et al.*, 2015; Ogura *et al.*, 2018).

Parameter uji *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., umumnya digunakan sebagai indikator hygiene produk pangan. Pengujian ini dilakukan sebab bakteri tersebut termasuk kelompok bakteri enterik. Parameter uji angka Enterobacteriaceae digunakan di negara-negara benua Eropa setelah diterbitkannya ISO 21582-2: 2017, karena famili Enterobacteriaceae meliputi bakteri *Salmonella* sp. dan *Shigella* sp., sehingga lebih efisien serta efektif (FACEnetwork, 2016). Berdasarkan Peraturan Kepala Badan POM Republik Indonesia Nomor 13 tahun 2019 menyatakan bahwa angka Enterobacteriaceae pada produk pangan olahan tidak boleh lebih atau sama dengan 10

CFU/gram atau 10 CFU/mL sampel. Di negara-negara Eropa, metode ISO-Violet Red Bile Glucose (VRBG) telah lama diterapkan sebagai uji angka Enterobacteriaceae. Tiga metode pengujian angka Enterobacteriaceae pada produk pangan yaitu Angka Paling Mungkin dibandingkan dengan enumerasi menggunakan Petrifilm dan International Standardization Organization untuk standar prosedur pengujian. Hasil yang dapat mengkonfirmasi hampir 100% famili Enterobacteriaceae ditunjukkan oleh metode ISO-VRBG (FACEnetwork, 2016; Ferraz *et al.*, 2010). Metode terkini telah diterbitkan ISO di tahun 2017. metode ISO-VRBG telah dibandingkan dengan metode kultur lembar kering Novel oleh Ogura *et al.*, pada tahun 2018. Kedua metode tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Dampak yang ditimbulkan dari keberadaan strain Enterobacteriaceae yang bersifat psikotrofik dan atau memiliki enzim lipolitik atau proteolitik dapat menurunkan kualitas olahan produk susu dan analognya. Selain itu potensi hazard Enterobacteriaceae terhadap kesehatan manusia disebabkan beberapa strain memproduksi *biogenic amines* dan senyawa toksin (Hatta and Marmansari, 2014).

Dari paparan tersebut, verifikasi metode pengujian angka Enterobacteriaceae dengan mengacu pada SNI ISO 21528-2:2017 perlu dilakukan guna memastikan bahwa metode uji tersebut layak digunakan untuk menguji angka Enterobacteriaceae pada produk susu dan analognya.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium, menggunakan sampel yang diadakan khusus untuk verifikasi metode. Ruang lingkup protokol ini adalah penanganan sampel untuk dilakukan pengujian mikrobiologi terkait verifikasi metode dengan parameter akurasi dan presisi. Sampel yang diuji merupakan sampel pangan kategori produk

susu dan analognya, yang berasal dari sub kategori susu kental manis, susu bubuk berperisa dan keju cheddar.

Waktu Dan Tempat Penelitian

Pengujian sampel dilakukan pada bulan Maret tahun 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar POM di Surabaya.

Pengumpulan Sampel

Sampel sebanyak masing-masing 12 kemasan, terdiri dari : Susu Kental Manis, Susu Bubuk Berperisa, Keju Cheddar

Pengujian Verifikasi Metode

Penimbangan dan pelarutan sampel menjadi suspensi awal sesuai dengan prosedur ISO 6887-1. Sebanyak 6 kemasan sampel diberi cemaran 1000 cfu/mL biakan *Enterobacter aerogenes* (kelompok perlakuan S+C). Sebanyak 6 kemasan sampel lainnya tidak diberi cemaran (kelompok perlakuan S). Sebanyak 2 buah pelarut sampel diberi cemaran 1000 cfu/mL biakan *Enterobacter aerogenes* (kelompok perlakuan Kontrol positif). Ketiga kelompok perlakuan (S, S+C, K+) dilakukan pengenceran sesuai dengan prosedur ISO 6887-1 (International Standard, 2017). Dilakukan metode uji cawan tuang menggunakan media VRBGA dan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam ± 2 jam. Koloni terduga Enterobacteriaceae berwarna merah sampai ungu (dengan ada atau tidak zona di sekelilingnya).

Uji Konfirmasi

Uji Oksidase

Satu ose inokulan digoreskan di atas kertas oksidase. Hasil uji oksidase dinyatakan negative bila kertas oksidase tidak menunjukkan perubahan warna menjadi biru atau ungu dalam kurun waktu 10 detik (International Standard, 2018).

Uji Fermentasi

Satu ose inokulan diinokulasikan ke dalam tabung yang telah berisi media Glucose OF. Ditambahkan kurang lebih 1 cm *mineral oil*

di atas permukaan media. Diinkubasi pada 37°C selama 24 jam ± 2 jam. Hasil uji fermentasi dinyatakan positif jika menunjukkan perubahan warna dari hijau menjadi kuning (International Standard, 2018).

Perhitungan Hasil Enterobacteriaceae

Setelah proses identifikasi, koloni dihitung pada masing-masing pengenceran menggunakan rumus sebagai berikut:

Enterobacteriaceae terkonfirmasi =

$\frac{B}{A} \times C$, di mana B adalah jumlah koloni yang

sesuai dengan kriteria identifikasi, A adalah jumlah koloni terduga pada cawan petri yang diambil untuk identifikasi, dan C adalah jumlah koloni terduga pada cawan petri.

Kemudian dihitung angka Enterobacteriaceae menggunakan rumus sebagai berikut: $N = \frac{ZC}{[V(n)^{*+} n2] \times d}$, di mana

N adalah angka Enterobacteriaceae, ΣC adalah jumlah koloni (terkonfirmasi) pada cawan petri dari pengenceran yang memenuhi rentang perhitungan, V adalah volume inokulum yang dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri (V = 1 ml), n1 adalah jumlah cawan petri yang digunakan pada pengenceran pertama yang dihitung, n2 adalah jumlah cawan petri yang digunakan pada pengenceran kedua yang dihitung, dan d adalah pengenceran yang berhubungan dengan pengenceran pertama yang dihitung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Verifikasi Uji Angka Enterobacteriaceae disajikan sebagai berikut:

Parameter Verifikasi

1. Presisi

RSD = SD/Rata-rata log Angka

CV = RSD x 100%

Syarat Keberterimaan :

Presisi untuk konsentrasi < 100 koloni/g →

CV <35% (USP).

Presisi untuk konsentrasi > 100 koloni/g →

CV <10% (Sac Singlas).

2. Akurasi

% Recovery = Rata-rata Log Angka @

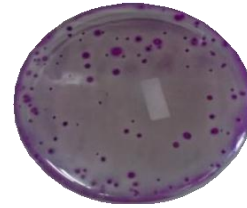
kelompok S + C x 100%

Rata-rata Log Angka @ kelompok K+

Syarat keberterimaan: Recovery 70-130%

(Konsensus Data Uji Kolaborasi P3OMN)

Hasil verifikasi uji Angka
 Enterobacteriaceae pada produk susu dan
 analognya disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.



Gambar 1. Morfologi koloni Enterobacteriaceae pada media VRBGA

Tabel 1. Hasil verifikasi angka Enterobacteriaceae pada produk susu dan analognya untuk sampel negatif

t	r	P	Pengamata n		Σ koloni	Nilai (kol/g)	Log	χ Log	SD	RSD	Pr (cv)	SK CV	KK CV	Ak	SK Ak	KK Ak
			r ₁	r ₂												
Sampel Negatif (S)	Kental Manis	1	10 ⁻¹	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		2	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		3	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		4	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		5	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		6	10 ⁻¹	0	0	0	0									
	Susu Bubuk	1	10 ⁻¹	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		2	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		3	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		4	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		5	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		6	10 ⁻¹	0	0	0	0									
	Keju Cheddar	1	10 ⁻¹	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		2	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		3	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		4	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		5	10 ⁻¹	0	0	0	0									
		6	10 ⁻¹	0	0	0	0									

Keterangan: t: perlakuan; r: ulangan; P: pengenceran; r₁: ulangan ke-1; r₂: ulangan ke-2; Σ: jumlah; χ: rata-rata; Pr(CV): Presisi (koefisien variasi); SKCV: Syarat Keberterimaan koefisien variasi; KKCV: Kriteria Keberterimaan koefisien variasi; Ak: Akurasi; SKAk: Syarat keberterimaan Akurasi; KKAk: Kriteria Keberterimaan Akurasi

Tabel 2. Hasil verifikasi angka Enterobacteriaceae pada produk susu dan analognya untuk sampel ditambah cemaran (1000 koloni/g)

t	r	P	Pengamatan		Σ koloni	Nilai (kol/g)	Log	χ Log	SD	RSD	CV	SK CV	KK CV	Ak	SK Ak	KK Ak
			r ₁	r ₂												
Sampel + Cemaran (1000 koloni/g)	1	10 ⁻¹	126	120	246	1231, 82	3,09									
		10 ⁻²	12	13	25											
		10 ⁻³	1	1	2											
		10 ⁻¹	135	127	262											
		10 ⁻²	16	12	28											
		10 ⁻³	2	2	4											
	2	10 ⁻¹	150	138	288	1454, 55	3,16									
		10 ⁻²	17	15	32											
		10 ⁻³	3	2	5											
		10 ⁻¹	142	135	277											
		10 ⁻²	15	16	31											
		10 ⁻³	4	2	6											
	3	10 ⁻¹	154	146	300	1500, 00	3,15									
		10 ⁻²	16	14	30											
		10 ⁻³	3	1	4											
		10 ⁻¹	143	141	284											
		10 ⁻²	10	15	25											
		10 ⁻³	2	4	6											
	4	10 ⁻¹	154	146	300	1500, 00	3,18									
		10 ⁻²	16	14	30											
		10 ⁻³	3	1	4											
		10 ⁻¹	143	141	284											
		10 ⁻²	10	15	25											
		10 ⁻³	2	4	6											

Susu Bubuk	1	10^{-1}	145	140	285	1431, 82	3,16	3,15	0,02	0,01	0,71 %	CV≤ 10%	MS	102, 26%	70- 130 %	MS
		10^{-2}	16	14	30											
		10^{-3}	2	2	4											
	2	10^{-1}	134	142	276	1368, 18	3,14									
		10^{-2}	10	15	25											
		10^{-3}	2	3	5											
	3	10^{-1}	151	146	297	1472, 73	3,17									
		10^{-2}	15	12	27											
		10^{-3}	3	2	5											
	4	10^{-1}	126	135	261	1322, 73	3,12									
		10^{-2}	15	15	30											
		10^{-3}	2	3	5											
	5	10^{-1}	132	140	272	1336, 36	3,13									
		10^{-2}	10	12	22											
		10^{-3}	2	3	5											
	6	10^{-1}	145	141	286	1377, 27	3,14									
		10^{-2}	9	8	17											
		10^{-3}	1	1	2											
Keju Cheddar	1	10^{-1}	141	135	276	1377, 27	3,14									
		10^{-2}	14	13	27											
		10^{-3}	2	2	4											
	2	10^{-1}	156	142	298	1486, 36	3,17									
		10^{-2}	14	15	29											
		10^{-3}	1	3	4											
	3	10^{-1}	142	148	290	1459, 09	3,16									
		10^{-2}	15	16	31											
		10^{-3}	1	2	3											
	4	10^{-1}	152	147	299	1481, 82	3,17									
		10^{-2}	12	15	27											
		10^{-3}	3	3	6											
	5	10^{-1}	134	147	281	1422, 73	3,15									
		10^{-2}	15	17	32											
		10^{-3}	2	4	6											
	6	10^{-1}	132	154	286	1418, 18	3,15									
		10^{-2}	14	12	26											
		10^{-3}	3	2	5											
Kontrol Positif (K)	1	10^{-1}	121	128	249	1250, 00	3,10									
		10^{-2}	12	14	26											
		10^{-3}	1	2	3											
	2	10^{-1}	109	118	227	1140, 91	3,06									
		10^{-2}	11	13	24											
		10^{-3}	1	2	3											

Keterangan: t: perlakuan; r: ulangan; P: pengenceran; r₁: ulangan ke-1; r₂: ulangan ke-2; Σ: jumlah; $\bar{\chi}$: rata-rata; Pr(CV): Presisi (koefisien variasi); SKCV: Syarat Keberterimaan koefisien variasi; KKCv: Kriteria Keberterimaan koefisien variasi; Ak: Akurasi; SKAk: Syarat keberterimaan Akurasi; KKAk: Kriteria Keberterimaan Akurasi; MS: memenuhi Syarat

Dari hasil verifikasi metode uji angka Enterobacteriaceae pada produk susu dan analognya sesuai SNI ISO 21528-2:2017, pada sampel negatif dan sampel yang dicemari *Enterobacter aerogenes* sebanyak 1000 koloni/g (S + C) diperoleh hasil presisi sebesar 0,71 dengan syarat <10% sehingga disimpulkan memenuhi syarat. Pada kontrol positif (K) diperoleh hasil presisi sebesar 0,91 dengan syarat <10% sehingga disimpulkan memenuhi syarat. Hasil akurasi sebesar 102,26% dengan syarat 80-130% sehingga disimpulkan memenuhi syarat.

Pemenuhan persyaratan SNI ISO 21528-2:2017 di laboratorium Mikrobiologi Balai Besar POM di Surabaya telah diterapkan.

Pengujian angka Enterobacteriaceae tidak terlepas dari peralatan uji yang digunakan. Kriteria alat di laboratorium yang digunakan harus terkalibrasi (Elfriede et al., 2018).

Kalibrasi alat mengacu pada standar nasional dan internasional, hal ini menjadi penting karena tingkat akurasi pengukuran yang tinggi kebenarannya dapat dijamin jika instrument yang digunakan telah dikalibrasi dan mempunyai ketelusuran sampai ke sistem satuan internasional (Ekici and Dūmen, 2019; Elfriede et al., 2018; Refianto and Irdawati, 2020).

Verifikasi metode di laboratorium Mikrobiologi untuk produk susu dan analognya dilakukan pada bulan Maret 2021, hal ini dimaksudkan supaya laboratorium Mikrobiologi mempunyai data verifikasi sebagai bukti objektif yang berlaku di laboratorium dan sesuai dengan kebutuhannya.

Pengambilan sampel merupakan hal penting yang tidak dapat dipisahkan dalam uji di laboratorium untuk mendapatkan hasil yang akurat. Sampel yang diterima di laboratorium harus terdapat kode sampel yang ditempel pada setiap sampel sebagai identitas dari sampel yang akan diuji (Elfriede *et al.*, 2018; International Standard, 2018; Vidakovic Knezevic *et al.*, 2021). Penanganan sampel yang diterima di laboratorium harus sesuai dengan *Standard Operational procedure* (SOP) untuk mendapatkan hasil yang valid.

SNI ISO 21528-2:2017 merupakan penyelarasan dari SNI ISO 17468. SNI ISO 21528-2:2017 digunakan sebagai panduan serta acuan untuk deteksi dan enumerasi Enterobacteriaceae, yang memiliki ruang lingkup metode enumerasi Enterobacteriaceae, dan Angka Paling Mungkin (APM/MPN). Teknik enumerasi Enterobacteriaceae dimaksudkan untuk digunakan jika jumlah koloni yang dicari diperkirakan lebih dari 100 per mililiter atau per gram contoh uji. Sedangkan Teknik Angka Paling Mungkin (APM/MPN) umumnya digunakan pada saat angka yang dicari diperkirakan di bawah 100 per mililiter atau per gram sampel uji (International Standard, 2018)

KESIMPULAN

Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa metode analisis sesuai SNI ISO 21528-2:2017 valid dan dapat digunakan untuk pengujian Angka Enterobacteriaceae pada Produk Susu dan Analognya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada seluruh staf Pengujian Mikrobiologi Balai Besar POM di

Surabaya yang telah membantu preparasi dan penyelesaian pengujian verifikasi di Laboratorium Mikrobiologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2019. Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 34 Tahun 2019 Tentang Kategori Pangan, Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia, 2019. Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 13 Tahun 2019 Tentang Batas Maksimal Cemar Mikroba Dalam Pangan Olahan. Indonesian Drug and Food Control 1–48.
- Bakri, Z., Hatta, M., Massi, M.N., 2015. ISSN 2252-5416 Deteksi Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* O157 : H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan PCR Detection of Existence of Bacterium *Escherichia coli* O157 : H7 in Feces of Diarrhea Patients by Culture and PCR Methods ISSN 2252-5 5, 184–192.
- Budiarso, T.Y., Winarni, H.C.S., 2016. Isolasi dan Identifikasi *Enterobacter sakazakii* pada Susu Mentah dan Produk Susu Segar di Daerah Istimewa Yogyakarta. Jurnal Sain Veteriner 34, 243–250.
- Ekici, G., Dümen, E., 2019. *Escherichia coli* and Food Safety, in: The Universe of *Escherichia coli*. IntechOpen, pp. 1–16. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82375>
- Elfriede, D.P., Kusumaningrum, H.D., Lioe, H.N., 2018. Kajian Persyaratan Teknis Laboratorium Pengujian Di Industri Susu Terhadap Produk Infant Formula Sesuai Iso 17025:2017. Jurnal Standardisasi 20, 219. <https://doi.org/10.31153/js.v20i3.725>
- FACEnetwork, 2016. European Guide for Good Hygiene Practices in the production of artisanal cheese and dairy products Target: Farmhouse and Artisan producers.

- Ferraz, M.A., Cerqueira, M.M.O.P., Souza, M.R., 2010. Evaluation Of Enterobacteriaceae In The Powdered Milk Production Chain Using Both Traditional (ISO 21528:2) and Rapid (3M™ Petrifilm™) Methods. *Ann Microbiol* 60, 373–376. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0059-7>
- Hatta, W., Marmansari, D., 2014. Dampak Kontaminasi Bakteri Enterobacteriaceae Pada Susu dan Olahannya. *Buletin Peternakan Disnak Keswan prov. Sul Sel.*
- International Standard, 2018. ISO 21528-2:2016.-Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration, and serotyping of *Salmonella*.
- International Standard, 2017. ISO 6887-1. Microbiology of the food chain-Preparation of Test Samples, Initial Suspension, and Decimal Dilutions for Microbiological Examination.
- Kornacki, J.L., Gurtler, J.B., Stawick, B.A., 2015. Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. In *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, Fifth Edit. ed. American Public Health Association, Washington DC.
- Ogura, A., Iwasaki, M., Ogihara, H., Teramura, H., 2018. Evaluation of the Novel Dry Sheet Culture Method for the Enumeration of Enterobacteriaceae. *Biocontrol Sci* 23, 235–240. <https://doi.org/10.4265/bio.23.235>
- Owen, M., Willis, C., Lamph, D., 2010. Evaluation of The TEMPO® Most Probable Number Technique for The Enumeration of Enterobacteriaceae in Food and Dairy Products. *J Appl Microbiol* 109, 1810–1816. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04810.x>
- Peraturan Pemerintah, 2019. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 86 Tahun 2019 Tentang Keamanan Pangan. Peraturan Pemerintah Tentang Keamanan Pangan 2019, 1–102.
- Pradika, A.Y., Chusniati, S., Purnama, M.T.E., Effendi, M.H., Yudhana, A., Wibawati, P.A., 2019. Uji Total *Escherichia coli* pada Susu Sapi Segar di Koperasi Peternak Sapi Perah (KPSP) Karyo Ngremboko Kecamatan Purwoharjo Kabupaten Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner* 2, 1. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss1.2019.1-6>
- Refianto, B., Irdawati, I., 2020. Enumertion of Enterobacteriaceae in Ice-Based School Children Food in Koto Tengah District, Padang West Sumatera. *Bioscience* 4, 39. <https://doi.org/10.24036/0202041105358-0-00>
- Rusidah, Y., Auliya, Q.A., Saputro, A., 2022. Studi Kualitas Produk Hewani Melalui Pengujian Mikrobiologi, Organoleptik, dan Derajat Keasaman Susu Sapi Segar yang Diproduksi Kota Kudus. *Jurnal Medika Indonesia* 1, 1–6.
- Standard, I., 2017. ISO 21528-2:2017._Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Colony-count technique_.
- Suwito, W., Andriani, N., Kristiyanti, F., Winarti, E., 2019. Identifikasi *E. coli* O157:H7, *Salmonella* sp, Dan Sensitifitas Antibiotika Dari Susu Kambing Dan Produk Olahannya. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian* 15, 36. <https://doi.org/10.21082/jpasca.v15n1.2018.36-42>
- Tsai, K., Hoffmann, V., Simiyu, S., Cumming, O., Borsay, G., Baker, K.K., 2022. Bacteroides Microbial Source Tracking Markers Perform Poorly in Predicting Enterobacteriaceae and Enteric Pathogen Contamination of Cow Milk Products and Milk-Containing Infant Food. *Front*

- Microbiol 12, 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.778921>
- Vidakovic Knezevic, S., Vranesevic, J., Pelic, M., Knezevic, S., Kureljusic, J., Milanov, D., Ljubojevic Pelic, D., 2021. The Significance of Enterobacteriaceae as a Process Hygiene Criterion in Yogurt Production. IOP Conf Ser Earth Environ Sci 854, 1–5.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/854/1/012104>
- Wanniatie, V., Qisthin, A., Husni, A., Olsen, E., 2021. Microbiological Quality of Goat Milk with High Temperature Short Time (HTST) Pasteurization method in Different Storage. Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan 9, 30–35.
<https://doi.org/10.29244/jipthp.9.1.30-35>
- Wiradayanti, A., 2020. Verifikasi Metode Uji Angka Enterobacteriaceae Pada Produk Pangan Mayones. Prodi DIII Analisis Farmasi dan Makanan.