

## DETEKSI CEMARAN *SALMONELLA spp* PADA DAGING AYAM SEGAR : KAJIAN DIAGNOSA KO-AGLUTINASI

Suryantana

Balai Veteriner Lampung

Email: suryo\_bpvs3@yahoo.co.id

### ABSTRAK

Konsumsi daging ayam di Indonesia dari tahun ke tahun 2012-2014 cenderung meningkat (Badan Pusat Statistik, 2017). World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa akibat penyakit berperantara makanan cukup besar, yakni 1 dari 10 orang jatuh sakit dan 33 juta orang kehilangan hidup yang sehat setiap tahun. Penelitian ini bertujuan untuk merancang perangkat diagnostik secara serologis berupa *Kit Rapid Test* dengan metode ko-aglutinasi, menghitung sensitivitas dan spesifitas pengujian, dan mendeteksi cemaran *Salmonella spp* dengan pengujian sesuai dengan hasil uji standar yakni kultur. Penelitian telah dilaksanakan mulai Oktober 2017 sampai Mei 2018. Seluruh proses penelitian telah dilaksanakan di laboratorium Balai Veteriner Lampung. Penelitian ini terbagi menjadi dua kegiatan utama, yaitu pembuatan *Kit Rapid Test* dan uji kinerja *Kit Rapid Test*. Hasil reaksi kit dengan isolat *Salmonella spp* terlihat sangat jelas kit dapat berikatan dengan antigen *Salmonella spp* yang diekspresikan dengan terbentuknya aglutinat (seperti butiran atau debris pasir lembut di dalam air). Hasil uji dari 55 sampel daging ayam segar dengan Kit Ko-Aglutinasi positif sejati sebanyak 7 sampel, positif palsu 3 sampel, negatif sejati 45 sampel dan negatif palsu tidak ada. kit uji cepat rapid test Ko-Aglutinasi *Salmonella* memiliki sensitifitas 100 % serta spesifitas 93,75%, konsentrasi bakteri minimal yang bisa terdeteksi oleh kit uji cepat sebesar  $1,5 \times 10^3$ , ditemukan cemaran *Salmonella sp* pada sampel daging ayam yang dikoleksi dari lapangan. *Kit Rapid Test Salmonella spp* direkomendasikan sebagai uji terakreditasi di laboratorium dan perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengujian cemaran daging lainnya dengan kit uji cepat rapid test Ko-Aglutinasi.

Kata Kunci: *Salmonella spp*, *Kit Rapid Test* Ko-Aglutinasi, cemaran daging

### PENDAHULUAN

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa akibat penyakit berperantara makanan cukup besar, yakni 1 dari 10 orang jatuh sakit dan 33 juta orang kehilangan hidup yang sehat setiap tahun. Kondisi tersebut bisa menjadi sangat parah, terutama bagi anak kecil. Diare adalah penyakit yang paling umum akibat makanan yang tidak aman, 550 juta orang jatuh sakit setiap tahunnya, termasuk 220 juta anak di bawah usia 5 tahun. *Salmonella* adalah 1 dari 4 penyebab global utama penyakit diare. Hingga saat ini, 60-80% kasus salmonellosis tidak dikenali sebagai bagian dari wabah yang sporadis atau tidak didiagnosis sama sekali (Media Centre WHO, 2017)

Cemaran mikroba dalam bahan pangan asal hewan/ternak, khususnya cemaran *Salmonella spp* di wilayah Lampung dilaporkan oleh Balai Veteriner Lampung dari hasil surveilans yang telah dilakukan pada Tahun 2012-2015 yang masing-masing ditemukan kejadian positif cemaran *Salmonella spp* sebanyak 5, 27, 1 dan 0 dari setidaknya 800 sampel daging ayam segar. Adanya hasil uji positif mengharuskan semua pihak meningkatkan kepedulian dan antisipasi untuk dapat meniadakan kejadian positif cemaran *Salmonella spp* serta tidak

adanya daging ayam tercemar mikroba yang dikonsumsi oleh masyarakat. Antisipasi tersebut diantaranya adalah monitoring disertai pengujian laboratorik untuk mendeteksi kemungkinan terjadinya cemaran (BPMSPH, 2015).

Metode pengujian yang diaplikasikan untuk melakukan deteksi cemaran *Salmonella spp* saat ini adalah dengan melakukan isolasi dan identifikasi bakteri, atau lebih dikenal dengan kultur bakteri. Pengujian tersebut membutuhkan bahan, waktu (7 hari untuk hasil positif sedangkan apabila hasil negatif diperlukan waktu sekitar 3-4 hari) (Arianti dan Supar, 2006), sarana dan personel penguji yang memiliki ketrampilan memadai. *Kit Rapid Test* metoda ko-aglutinasi adalah pengujian tapis sebelum pengujian isolasi dan identifikasi, memiliki akurasi tinggi, karena metode ko-aglutinasi memiliki sifat alami yang spesifik untuk terjadinya ikatan antara antibodi terhadap antigen homolog (Amanu *et al.*, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk merancang perangkat diagnostik secara serologis berupa *Kit Rapid Test* dengan metode ko-aglutinasi, menghitung sensitivitas dan spesifitas pengujian, dan mendeteksi cemaran *Salmonella spp* dengan pengujian sesuai dengan hasil uji standar yakni kultur.

Metode uji yang telah dibuat memanfaatkan teknik koaglutinasi yang didasari reaksi imunologi yakni ikatan spesifik antara antigen dan antibodi. Kinerja kit rapid tes diuji dengan menggunakan kit rapid tes untuk menguji isolat *Salmonella sp*, sampel daging hasil simulasi cemaran mikroba serta sampel yang dikoleksi dari lapangan. Hasil pengujian dibandingkan dengan uji kultur yang merupakan *gold standard* untuk menguji atau mendeteksi cemaran mikroba.

## MATERI DAN METODE

### Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilaksanakan mulai Oktober 2017 sampai Mei 2018. Seluruh proses penelitian telah dilaksanakan di laboratorium Balai Veteriner Lampung.

### Alat dan Bahan

Alat- alat yang diperlukan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah Disposable syring (3 mL, 5 mL, 10 mL), filter dialisa 8000 Da, pipet Pasteur, waterbath, sentrifus, magnetic stirrer, beker glass (50 mL, 300 mL), tabung konikal 15 mL, object glass, tabung reaksi, cawan petri. Bahan-bahan yang digunakan adalah isolat *Salmonella spp*, isolat *Staphylococcus aureus*, larutan standar Mc Farland, kelinci percobaan (umur kurang lebih dua tahun dengan berat badan  $\pm 2$  kg), amonium sulfat jenuh ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) pH 8,0, NaCl fisiologis 0,85%, Phosphat Buffer Saline (PBS) pH 7,2, Formalin Buffer 0,5%, *Tryptone Soya Agar* (TSA), Lactose broth (LB), Tetrathionate broth, Serum Soft Agar (SSA), VP-MR medium, Urea Broth, Lysin iron agar, Malonate broth, Triple Sugar Iron (TSI), Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar, Phenol red lactose broth, aquadestilata.

## Metode

Penelitian ini terbagi menjadi dua kegiatan utama, yaitu pembuatan *Kit Rapid Test* dan uji kinerja *Kit Rapid Test*.

### a. Pembuatan *Kit Rapid Test*

Pembuatan *Kit Rapid Test* terbagi menjadi 4 (empat) sub kegiatan, yakni penyiapan serum anti, isolasi imunoglobulin dari serum anti, penyiapan protein A *Staphylococcus aureus*, pengikatan (*couple*) imunoglobulin dengan Protein A. Teknik pelaksanaan mengacu pada Kimura (1985) dan Amanu (2015).

### b. Uji kinerja *Kit Rapid Test Salmonella spp*

Tahapan pengujian kinerja kit meliputi pengujian menggunakan isolat *Salmonella spp*, pengujian dengan menggunakan sampel hasil simulasi cemaran mikroba (*Salmonella spp*), pengujian menggunakan sampel lapangan,

### c. Membandingkan dengan uji standar (kultur bakteri).

Langkah kerja yang dilaksanakan meliputi pra-pengayaan, pengayaan, isolasi dan identifikasi, uji biokimia, uji *serologis*, Interpretasi hasil *Salmonella spp*.

## Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif. Hasil analisa memberikan informasi tingkat kesesuaian antara hasil uji ko-agulasi dan hasil isolasi-identifikasi menggunakan metode kultur bakteri, nilai sensitifitas dan spesifisitas uji ko-agulasi serta konsentrasi cemaran terendah yang mampu diuji dengan kit ko-aglutinasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

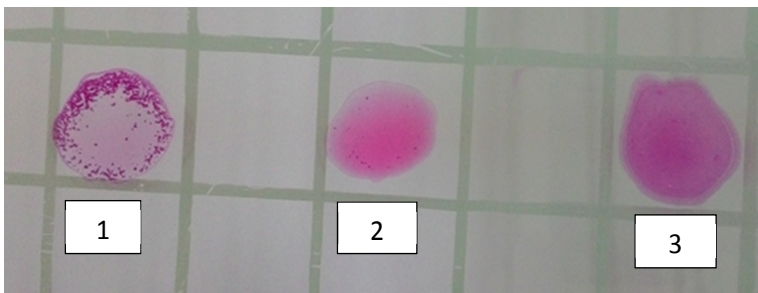
### Uji kinerja Kit Ko-Aglutinas

Hasil reaksi kit dengan isolat *Salmonella spp* terlihat sangat jelas kit dapat berikatan dengan antigen *Salmonella spp* yang diekspresikan dengan terbentuknya aglutinat (seperti butiran atau debris pasir lembut di dalam air) yang jelas terlihat (Gambar 1).



Gambar 1. Kit Ko-Aglutinas direaksikan dengan isolat *Salmonella spp*

Pengujian untuk mengetahui kemungkinan adanya reaksi silang dilakukan juga agar dapat dipastikan bahwa kit hanya bereaksi dengan antigen *Salmonella spp.* Hasil uji reaksi silang *Kit Rapid Test* dengan antigen bakteri *Pasteurella multocida* dan *E. coli* menunjukkan hasil negatif dibandingkan dengan kontrol positif menggunakan antigen dari biakan *Salmonella spp* dan kontrol negatif dari PBS, sebagaimana terlihat pada Gambar 2. Hasil ini menunjukkan bahwa antigen yang berasal dari antibodi spesifik dalam *Kit* akan berikatan hanya dengan antigen spesifik. Hal tersebut menunjukkan bahwa *Kit* yang diuji tidak menunjukkan reaksi positif terhadap antigen dari *Pasteurella multocida* dan *E. coli*. Antigen yang dapat berikatan dengan *Kit Rapid Test* yaitu antigen dari biakan *Salmonella spp* saja, hal ini menunjukkan bahwa *Kit Rapid Test* yang dibuat pada penelitian ini hanya bereaksi terhadap antigen homolog atau antigen spesifik terhadap biakan *Salmonella spp*.

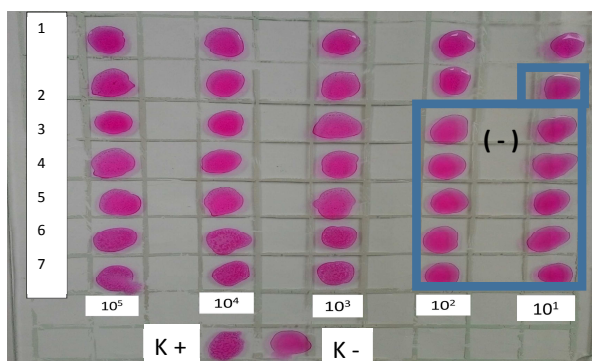


Gambar 2. Pengujian reaksi silang. *Kit Rapid Test* hanya bereaksi dengan antigen *Salmonella* (no. 1), tidak bereaksi dengan antigen lain ditandai dengan tidak terbentuk aglutinasi (no.2 (isolate *E coli*), no. 3 (isolate *Pasteurella multocida*))

Hasil pengujian kinerja kit yang direaksikan dengan sampel simulasi cemaran dipaparkan pada Tabel 1 dan gambaran hasil reaksi terlihat di Gambar 3.

Tabel 1. Pengujian Kinerja Kit Dengan Simulasi Cemaran Bertingkat

| Pengulangan Ke- | Konsentrasi Suspensi <i>Salmonella</i> /mL |                   |                   |                   |                   |
|-----------------|--------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                 | $1,5 \times 10^5$                          | $1,5 \times 10^4$ | $1,5 \times 10^3$ | $1,5 \times 10^2$ | $1,5 \times 10^1$ |
| 1               | +                                          | +                 | +                 | +                 | +                 |
| 2               | +                                          | +                 | +                 | +                 | -                 |
| 3               | +                                          | +                 | +                 | -                 | -                 |
| 4               | +                                          | +                 | +                 | -                 | -                 |
| 5               | +                                          | +                 | +                 | -                 | -                 |
| 6               | +                                          | +                 | +                 | -                 | -                 |
| 7               | +                                          | +                 | +                 | -                 | -                 |



Gambar 3. Hasil pengujian cemaran bertingkat dengan Kit Rapid Test Koaglutinasi *Salmonella spp.* Sampel no.1 positif sampai  $10^1 \times 1,5$ , no. 2 positif sampai  $10^2 \times 1,5$ , sampel no. 3-7 positif sampai  $10^3 \times 1,5$ . Hasil positif ditandai dengan tidak terbentuk aglutinat (bentukan debris pasir).

### Pengujian dengan sampel lapang

Tahap terakhir pengujian kinerja kit yakni mereaksikan atau menantang dengan sampel-sampel hasil surveilans. Sampel yang dipakai adalah sampel yang dikoleksi dari pasar tradisional di wilayah Provinsi Lampung (sampel nomor 1- 25) dan Kepulauan Bangka Belitung (sampel no 26 – 55). Hasil pengujian perbandingan kedua metode uji ditampilkan pada Tabel 2.

Hasil uji sampel lapangan menggunakan *Kit Rapid Test* menunjukkan adanya reaksi aglutinasi positif pada daging ayam yang tercemar *Salmonella spp.* Lama waktu terjadinya reaksi positif menggunakan *Kit Rapid Test* dengan sampel lapangan membutuhkan waktu kurang lebih 5-10 menit. Hasil ini menunjukkan bahwa *Kit* yang dipakai sesuai dengan beberapa referensi yang menyebutkan bahwa hasil positif menggunakan uji ko-aglutinasi ditunjukkan dengan adanya reaksi aglutinasi luas yang terbentuk singkat kurang dari 15 menit (Yoshimizu dan Kimura, 1985). Reaksi aglutinasi positif terjadi karena adanya ikatan antibodi spesifik dengan antigen homolog dari bakteri yang ditunjukkan adanya debris pasir.

Berdasarkan reaksi antara *Kit* dan antigen biakan *Salmonella spp* dan antigen dari sampel lapangan sama-sama berhasil menghasilkan reaksi positif dengan terbentuknya debris pasir. Waktu yang dibutuhkan untuk terjadi reaksi aglutinasi antara *Kit* dan antigen baik dari isolat maupun sampel lapang sama, yaitu 5 sampai 10 menit sejak dicampurkan. Pengerjaan uji serologis mudah dan sederhana, proses persiapan uji membutuhkan waktu yang tidak lama. Total waktu yang dibutuhkan untuk persiapan dan pemeriksaan sampel kurang lebih 3 jam.

Dengan dasar hasil pengujian pada tabel diatas dan perincian dengan tabel 2x2, selanjutnya dapat dilakukan perhitungan untuk mengetahui sensitifitas dan spesifitas dari uji yang hasilnya sebagai berikut :

Tabel 2. Perbandingan hasil pengujian Kit Ko-Aglutinası dan kultur bakteri

| Status Uji Sampel                      |         | Kultur Bakteri |         | Total |
|----------------------------------------|---------|----------------|---------|-------|
|                                        |         | Positif        | Negatif |       |
| Kit Ko-Aglutinası<br><i>Salmonella</i> | Positif | 7              | 3       | 10    |
|                                        | Negatif | 0              | 45      | 45    |
| Total                                  |         | 7              | 48      | 55    |

Dari tabel 2 diketahui bahwa hasil uji dengan Kit Ko-Aglutinası positif sejati sebanyak 7 sampel, positif palsu 3 sampel, negatif sejati 45 sampel dan negatif palsu tidak ada. Perhitungan nilai sensitivitas dan spesifisitas uji Kit Ko-Aglutinası adalah sebagai berikut :

$$\text{Sensitifitas Uji} = \frac{7}{7 + 0} \times 100 \% = 100 \%$$

$$\text{Spesifisitas Uji} = \frac{45}{45 + 4} \times 100 \% = 93,75 \%$$

Hasil perhitungan diatas bermakna bahwa sampel-sampel yang positif tercemar bakteri *Salmonella spp* dari hasil pengujian kultur bakteri (gold standart untuk identifikasi cemaran bakteri) dapat 100% dideteksi oleh Kit Ko-Aglutinası dan sampel-sampel yang negatif 93,75 % dapat dideteksi oleh Kit Ko-Aglutinası (terdapat 6,25 % yang berpotensi menyimpang, yaitu yang sejatinya negatif dideteksi positif oleh Kit Ko-Aglutinası). Hal tersebut mengindikasikan bahwa Kit Ko-Aglutinası sangat baik untuk diaplikasikan, setidaknya sebagai uji tapis, sehingga pengujian akan efisien terutama untuk laboratorium yang memiliki sumber dana terbatas. Nilai sensitifitas (Se) dan spesifisitas (Sp) tidak terpaut jauh dengan penelitian yang membandingkan kultur *Salmonella spp* dengan pengujian menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang dilakukan oleh Ahmed OB, *et al.* (2014) yang mendapatkan hasil Se : 100% dan Sp : 97,5%. Pengujian PCR saat ini merupakan metode pengujian yang banyak digunakan dan dikembangkan, akan tetapi penggunaan (di Indonesia khususnya) sering terkendala dengan biaya pengujian yang cukup mahal.

Kit Rapid Test untuk mendeteksi cemaran *Salmonella spp* telah banyak diproduksi dan dipasarkan. Beberapa contoh yaitu Rapid Check ®Select™ *Salmonella*, produksi Rammer Labs, *Salmonella Rapid Test*™ produksi Oxoid dan *Rapid Qualitative Salmonella*™ produksi Mediatecno. Kit-kit tersebut memanfaatkan sifat-sifat *Salmonella spp* seperti kemampuan fermentasi dan lainnya serta penggunaan prinsip-prinsip kultur, yang menjalankan proses pengakayaan, serta inkubasi yang cukup lama (22-32 jam Rapid Check

®Select™ *Salmonella*, 18 jam *Salmonella* Rapid Test™, 16-24 jam pada kit Rapid Qualitative *Salmonella*™), serta masih memerlukan perlengkapan standar, yaitu inkubator. Jika dibandingkan, Kit Rapid Test ko-aglutinasi yang dihasilkan dalam penelitian ini jauh lebih efisien waktu serta efisien peralatan karena tidak memerlukan incubator maupun peralatan standar lainnya.

Studi dan teknis deteksi penyakit menggunakan metode ko-aglutinasi sudah dikembangkan pada tahun 1972 yang digunakan untuk diagnosa bakteri *Pneumococci* dan penyakit akibat infeksi bakteri lain seperti *Streptococcus*, *Nisseria gonorrhoeae* dan *Haemophilus influenza* (Yoshimizu dan Kimura, 1985), namun belum banyak digunakan untuk deteksi cemaran pada bahan asal hewan. Beberapa peneliti yang melaksanakan penelitian terkait teknik ini adalah Sumithra *et al.*, (2014), yang menyatakan identifikasi Anthrax menggunakan teknik ko-aglutinasi dapat digunakan dengan mudah, sensitif, dan murah. Montassier *et al.*, (1994), mengungkapkan hasil penelitiannya bahwa Ko-aglutinasi merupakan uji serologis yang efisien digunakan untuk deteksi *Foot Mouth Disease Virus* (FMDV) atau virus penyakit mulut. Bootland dan Leong, (1992), mendeteksi penyakit IHNV pada ikan dan menyatakan uji ko-aglutinasi dapat dengan mudah digunakan, murah, simpel, sensitif, dan tidak membutuhkan perangkat sulit. Yoshimizu dan Kimura, (1985) mendeteksi bakteri penyebab *bacterial kidney disease* (BKD) dan *infectious pancreatic necrosis* (IPN) pada ikan menggunakan uji ko-aglutinasi, dan menyatakan uji ko-aglutinasi dapat digunakan di laboratorium maupun di lapangan serta tidak memerlukan perangkat yang rumit. Keunggulan-keunggulan tersebut membuka peluang sangat mungkin *Kit Rapid Test* digunakan secara luas, baik untuk melakukan uji sampel di laboratorium maupun di lapangan.

Asal sampel lapang yang diuji dalam penelitian ini diambil pada waktu pagi dari lapak pedagang yang memiliki resiko tinggi tercemar *Salmonella*. Dasar pengambilan sampel meliputi prosesing karkas (penyembelihan, pencabutan bulu, display daging, dan lain lain), tempat pemrosesan karkas, alat yang digunakan, air untuk pencucian, dan hal hal lain yang berhubungan dengan higienitas makanan. Fakta yang ada menunjukkan bahwa masih banyak pedagang ayam meletakkan daging ayam di lantai kotor sebelum dipasarkan, mencuci daging dengan air yang tidak bersih. Hal ini sudah seharusnya menjadi tanggung jawab semua pemangku kepentingan untuk berusaha membuat kondisi menjadi lebih baik.

Kejadian cemaran *Salmonella spp* pada daging memang sudah banyak diteliti, salah satunya adalah Aftab *et al.*, 2012 yang menyatakan kontaminasi atau cemaran *Salmonella* paling tinggi terjadi di dalam rumah pemotongan, yakni 30,36 %, tercemar oleh peralatan seperti kampak 22,14 % dan pisau 15,14 %. Laporan cemaran *Salmonella* yang sangat mencengangkan adalah laporan hasil penelitian Syarifah dan Novarieta (2015) yang menyatakan 46 dari 87 (53,56 %) sampel yang diambil dari 10 kota dan ditelitinya positif tercemar *Salmonella*.

Informasi-informasi tersebut menunjukkan bahwa deteksi dini yang berupa pengujian yang cepat terhadap cemaran *Salmonella* sangat diperlukan, demi melindungi kesehatan masyarakat. Kit Rapid Test yang dihasilkan dari penelitian ini diharapkan menjadi salah satu jawaban kebutuhan perangkat diagnostik atau pengujian yang cepat dan akurat.

*Kit Rapid Test* hasil penelitian ini memang bukan tidak ada kelemahan. Salah satunya adalah uji stabilitas. Uji stabilitas yang dimaksud adalah pengujian untuk mengetahui seberapa panjang waktu *Kit Rapid Test* tidak berubah kualitasnya atau masih layak dipakai sebagai perangkat pengujian, sehingga jaminan mutu hasil pengujian menggunakan *Kit Rapid Test* ko-aglutinasi *Salmonella* masih terjaga. Uji stabilitas bisa dilaksanakan sebagai penelitian lanjutan dari penelitian ini.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kit uji cepat rapid test Ko-Aglutinasi *Salmonella* memiliki sensitifitas 100 % serta spesifisitas 93,75%, konsentrasi bakteri minimal yang bisa terdeteksi oleh kit uji cepat sebesar  $1,5 \times 10^3$ , ditemukan cemaran *Salmonella* sp pada sampel daging ayam yang dikoleksi dari lapangan. *Kit Rapid Test Salmonella spp* direkomendasikan sebagai uji terakreditasi di laboratorium dan perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengujian cemaran daging lainnya dengan kit uji cepat rapid test Ko-Aglutinasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aftab. 2012. *A Focus on Salmonella*. <http://www.nal.usda.gov/fsrio/research/fsleets/fsheet10.htm>
- Ahmed, O.B., Atif, H.A., Ibrahim, H.A., El-Rahim, A. and Hegazy, A.I., 2014. Detection of *Salmonella* in Food Samples by Culture and Polymerase Chain Reaction Methods. Department of Environmental and Health Research, The Custodian of the Two Holy Mosques Institute for Hajj and Omraa, Kingdom of Saudi Arabia. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 5:1-3
- Amanu, S., Rifai, A.B., Syarif, A. dan Fikar, M., 2015. Development of Co-agglutination Method for Viral Nervous Necrosis from Grouper (*Epinephelus sp.*) in Batam. *JAST B*, 5:502-505
- Ariyanti, T., Supar, 2006. *Problematika Salmonellosis Pada Manusia*. Balai Penelitian Veteriner. Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis. Bogor.P : 161-171

- Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Pangan Asal Hewan (BPMSPH), 2016. *Laporan Tahunan 2015*. Bogor
- Bootlanddan Leong, Bjoreck, L. Dan Kronvall, G., 1992. Purification and some properties of *Streptococcal protein G*, anovel IgG-binding reagent. *J. Immunology*. 133(2):969-974.
- Cowan dan Steel's. 1993. *Manual for The Identification of Medical Bacteria*, 3<sup>th</sup> Ed. Cambridge University Press. P:140.
- Montassier, Kauffmann F, Edwards P R., 1954. Classification and nomenclature of *Enterobacteriaceae*. *Int Bull BacteriolNomencl Taxon*. 2:2–8.
- Syarifah dan Novarieta, 2005. *Metode Pengujian Cemaran Mikroba Dalam Daging, Telur dan Susu serta Hasi Iolahannya*. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Sumithra, T.G., Chaturvedi, V.K., Gupta, P.K., Siju, S.J., Susan, C., Bincy, J., Laxmi, U., Sunita., S.C., Rai, A.K., 2014. Development of a simple method for the rapid identification of organisms causing anthrax by coagglutination test.*Biologicals*. 42 : 316 - 321.
- World Health Organization (WHO) Media Centre, 2017. *Salmonella* (non-typoidal). [www.who.int](http://www.who.int)
- Yoshimizu, M., dan Kimura, T., 1985. A *Coagglutination Test* with Antibody-Sensitized *Staphylococci* for Rapid and Simple Diagnosis of Bacterial and Viral Diseases of Fish. *Fish Pathology*. 20 : 243-261.