

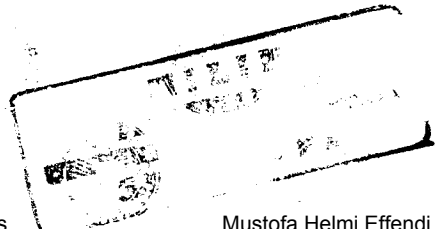
DESERTASI

**VARIABILITAS STRAIN *Staphylococcus aureus* YANG
DIISOLASI DARI SUSU SAPI PERAH PENDERITA MASTITIS
DI JAWA TIMUR DENGAN PENDEKATAN GEN PENYANDI
PROTEIN PERMUKAAN BAKTERI DAN
UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIKA**



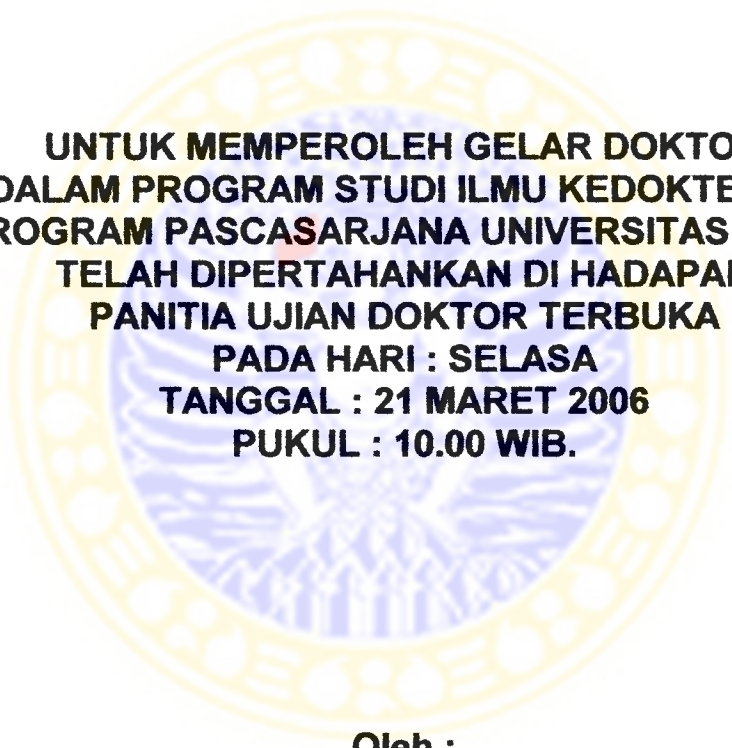
Mustofa Helmi Effendi

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**



**VARIABILITAS STRAIN *Staphylococcus aureus* YANG
DIISOLASI DARI SUSU SAPI PERAH PENDERITA MASTITIS
DI JAWA TIMUR DENGAN PENDEKATAN GEN PENYANDI
PROTEIN PERMUKAAN BAKTERI DAN
UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIKA**

DISERTASI



**UNTUK MEMPEROLEH GELAR DOKTOR
DALAM PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN
PADA PROGRAM PASCASARJANA UNIVERSITAS AIRLANGGA
TELAH DIPERTAHANKAN DI HADAPAN
PANITIA UJIAN DOKTOR TERBUKA
PADA HARI : SELASA
TANGGAL : 21 MARET 2006
PUKUL : 10.00 WIB.**

Oleh :

**Mustofa Helmi Effendi
NIM: 090114555 D**

Lembar Pengesahan

Disertasi ini telah disetujui pada
Tanggal 27 Maret 2006

Oleh

Ko-Promotor

Promotor



Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., SpMK.

Prof. Dr. Sri Subekti, drh., DEA

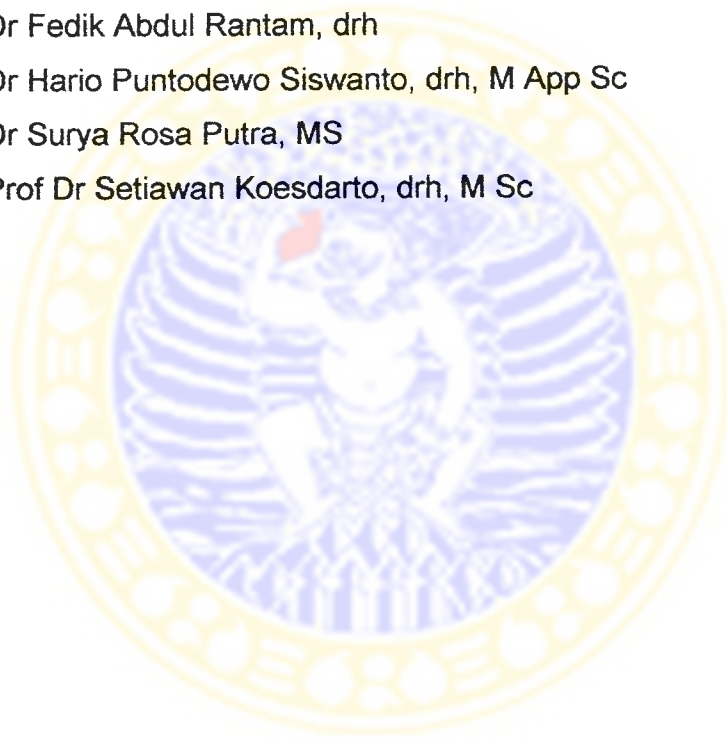
Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran



Prof. Dr. Mandojo Rukmo, drg., MSc., Sp KG.

Telah diuji pada
Tanggal 16 Februari 2006
PANITIA PENGUJI DISERTASI

- Ketua Prof Dr Soehartojo Hardjopronjoto, drh, M Sc
Anggota 1. Prof Dr Sri Subekti B.S., drh, DEA
 2. Dr Eddy Bagus Wasito, dr, Sp MK, MS
 3. Prof Kuntoro, dr, MPH, Dr PH
 4. Dr Fedik Abdul Rantam, drh
 5. Dr Hario Puntodewo Siswanto, drh, M App Sc
 6. Dr Surya Rosa Putra, MS
 7. Prof Dr Setiawan Koesdarto, drh, M Sc



Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga
Nomor : 1322/ JO3/ PP/ 2006
Tanggal 23 Februari 2006

UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur alhamdulillah adalah ucapan yang pertama kali saya haturkan kepada Allah SWT atas segala rahmat, taufik serta hidayahNya, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini.

Selama proses studi, penelitian dan penulisan disertasi ini yang merupakan hasil olah kreasi, inovasi dan ekstrapolasi yang tidak dapat berhasil tanpa bantuan, dorongan dan bimbingan dari berbagai pihak. Untuk itulah, pada kesempatan ini saya menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang setulusnya kepada :

Prof Dr Hj Sri Subekti, drh, DEA, atas kesediaan beliau menjadi promotor, di tengah kesibukan yang begitu padat masih berkenan meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan petunjuk dengan kesabaran mulai sebagai Penasihat Akademik sampai menjadi Promotor. Beliau selalu memberikan nasihat baik berupa dukungan moril maupun nasihat yang terkait dengan keilmuan sehingga saya dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini.

Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, Sp MK, selaku ko-promotor, yang diantara kesibukannya yang tinggi beliau tanpa pernah bosan mengingatkan, memotivasi dan memberikan asupan keilmuan dalam rangka pengembangan kematangan dan pendewasaan berpikir untuk penyelesaian berbagai masalah yang terkait dengan proses penulisan disertasi.

Proses penyelesaian tugas akademik dalam rangka program Doktor ini tidak lepas dari peran banyak pihak yang berkaitan. Untuk itu secara jujur dan ikhlas saya menyampaikan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada :

Pemerintah Republik Indonesia, khususnya Menteri Pendidikan Nasional dan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberikan kesempatan bantuan beasiswa BPPS dalam mengikuti pendidikan doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Rektor Universitas Airlangga, Prof H Dr Med Puruhito, dr, Sp B TKV, dan juga mantan rektor Universitas Airlangga Prof H Soedarto, dr, DTM&H, PhD, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya sebagai mahasiswa Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H Muhammad Amin, dr, SpP (K) dan semua asisten direktur yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Selain itu kelancaran proses pengurusan administrasi selama mengikuti pendidikan tidak lepas dari peran seluruh staf administrasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof Dr H Mandojo Rukmo, drg, MSc, SpKG, selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga dan mantan ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr Juliati Hood A., dr, MS, SpPA, FIAC, atas berbagai nasihat dan perhatian yang diberikan kepada saya selama mengikuti pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof Dr Ismudiono, drh, MS, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin dan kesempatan mengikuti program pendidikan doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua Tropical Disease Center (TDC) Universitas Airlangga, Prof Dr H Yoes Prijatna Dachlan, dr, MSc, yang telah memberi ijin untuk melakukan penelitian di TDC Unair.

Ketua Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Ibu Soetji Prawesthirini, drh, SU, yang memberi ijin untuk melakukan penelitian terutama berkaitan penentuan isolat secara laboratorium. Juga kepada Dr Garry Cores de Vries, drh, MSc, mantan kepala laboratorium Epidemiologi dan Zoonosis FKH Unair yang telah mengizinkan dan mendorong saya untuk mengikuti pendidikan doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Hj Sorini Hartini, drh, (alm) mantan kepala bagian Kesmavet Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang memberikan perhatian penuh terhadap pendidikan saya, secara tulus saya ucapkan banyak terima kasih pada beliau yang dengan penuh kesabaran memberikan banyak nasihat untuk kemajuan pendidikan saya.

Direktur *Institute of Veterinary Food Science – University of Giessen, Germany*, Prof Dr Ewald Usleber yang memberi rekomendasi untuk mendapatkan beasiswa DAAD dan membimbing, mengarahkan dan memberikan fasilitas untuk penelitian biologi molekuler. Juga kepada Dr Omer

Akineden dan Dr Muhammad Hassan atas saran, nasihat dan diskusinya dalam rangka penyelesaian penelitian selama saya berada di Jerman.

Dr A.T. Soelih Estoepangestie, drh, kolega sekaligus dosen Mata Kuliah Penunjang Disertasi yang banyak memberikan masukan keilmuan yang berkaitan dengan *Bovine Mastitis*, beliau juga memberikan banyak informasi mengenai tatacara untuk mendapatkan beasiswa DAAD, yang sangat saya perlukan untuk menyelesaikan penelitian di Jerman.

Dr Hario Puntodewo Siswanto, drh, M App Sc, DEA, kolega dan juga naskah penelitiannya banyak berguna mempertajam pembahasan tentang resistensi antibiotika dalam disertasi saya dan beliau juga merupakan dosen penguji Proposal, Naskah Disertasi, Doktor tahap I.

Dr Angela Mariana Lusiastuti, drh, M Si, kolega dan teman diskusi yang menyenangkan, baik sewaktu berada di Jerman maupun dalam aktifitas keseharian di kantor, beliau juga sebagai ketua tim penelitian yang naskah penelitiannya banyak menambah wawasan tentang gambaran perbandingan antara ekspresi protein dari gen penyandi protein permukaan bakteri *Staphylococcus aureus* dari beberapa lokasi peternakan.

Dadik Raharjo, drh, M Kes, yang memberi masukan dan asupan keilmuan yang berkaitan tentang Mikrobiologi yang menambah kepercayaan saya untuk segera menyelesaikan tugas akademik ini.

H Yoyok Wiyono, drh, karyawan PT. Nestle Indonesia, yang banyak membantu memperkenalkan saya ke pimpinan Koperasi Nongkojajar maupun koperasi Batu, yang bermanfaat untuk mempermudah akses memperoleh

sampel, dan juga menyediakan data yang diperlukan dalam menentukan populasi sapi perah di Jawa Timur.

Ketua Koperasi Sapi Perah Grati, Nongkojajar, Batu dan Wonocolo Surabaya beserta tenaga medisnya yang secara sabar dan tulus membantu mencarikan lokasi dan tempat yang tepat untuk pencarian sampel susu sapi perah penderita mastitis.

Kepada kedua orang tua saya H. Achmad Effendi (alm) dan Ibu Hj. Soemiratning, atas segala bimbingan, arahan dan pemberian semangat dalam menuntut ilmu yang tidak pernah saya peroleh di pendidikan formal mulai saya dilahirkan sampai saya dapat menyelesaikan pendidikan program doktor, semoga Allah SWT selalu melimpahkan kasih sayangNya kepada beliau berdua.

Kedua mertua saya, Bapak Kadari (alm) dan Ibu Siti Mutmainah, yang memberikan doa restu kepada saya sekeluarga, sehingga saya dapat memperoleh ketenangan dan ketentraman dalam menyelesaikan pendidikan doktor ini dengan baik dan lancar.

Kepada ketiga anak saya tercinta : Rizki Izdihar Helmi, Azhar Muhammad Helmi dan Vitra Nuraini Helmi, ayah sangat bersyukur dan bangga mempunyai anak seperti kalian yang selalu dapat menjadi sumber inspirasi dalam kepekatan penyelesaian masalah dan dapat menjadi sumber kebahagiaan dalam mengarungi lautan kehidupan. Saya berharap kalian semua mampu bekerjasama terus menerus dalam menapaki kehidupan di masa mendatang, semoga Allah SWT memberi hidayah kepada kalian semua.

Rasa cinta dan terima kasih yang tidak terhingga kepada istri tercinta, Dra Hj Budiastuti, Apt, yang telah dengan setia mendampingi saya selama lebih dari 17 tahun. Yang paling berkesan dari istri saya adalah sewaktu mendampingi saya dalam rangka penelitian di Jerman dan dilanjutkan dengan melakukan ibadah haji bersama, semoga Allah SWT melimpahkan taufikNya kepada kita sekeluarga.

Semua pihak dan handai taulan serta para sejawat yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyelesaian disertasi ini.

Sebagai manusia yang tidak bisa lepas dari salah dan khilaf, baik yang disengaja maupun yang tidak disengaja, terutama selama saya menempuh pendidikan S3, maka saya dengan kerendahan hati mohon untuk dimaafkan kesalahan saya tersebut.

RINGKASAN

Variabilitas Strain *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Susu Sapi Perah Penderita Mastitis di Jawa Timur dengan Pendekatan Gen Penyandi Protein Permukaan Bakteri dan Uji Sensitivitas Antibiotika

Mustofa Helmi Effendi

Mastitis adalah peradangan pada ambing dan umumnya berdampak paling jelek pada peternakan sapi perah yang terkait dengan masalah ekonomi dan produktivitas ternak. Penyakit tersebut tidak dapat diberantas tetapi dapat diturunkan angka kejadiannya dengan manajemen yang baik pada peternakan sapi perah tersebut. Mastitis menyebabkan kerugian ekonomi pada petani dengan beberapa cara; hasil susu yang menurun, kualitas susu menjadi jelek atau terkontaminasi dengan antibiotika yang mengakibatkan produknya tidak dapat dijual, adanya biaya pengobatan, tingginya angka pengafkiran dan kadang-kadang mengakibatkan kematian. Pengolahan industri susu juga merugi disebabkan oleh masalah kandungan antibiotika dalam susu yang dapat menurunkan kandungan kimiawi susu dan kualitas susu dari sapi perah penderita mastitis.

Pemahaman tentang epidemiologi dari *Staphylococcus aureus* yang meliputi sumber penularan, alur penularan dan faktor resiko menghasilkan sistem pengendalian mastitis yang baik dengan agen penyakit *Staphylococcus aureus* di beberapa peternakan. Hal penting dari pengendalian *Staphylococcus aureus* adalah menyadari bahwa bakteri ini ditularkan dari sapi ke sapi selama proses pemerahan. Langkah higienis selama waktu pemerahan menurunkan perpindahan bakteri dari sapi ke sapi yang berdampak penurunan *intramammary infection* (IMI) yang baru. Tetapi hanya dengan sistem higienis pemerahan saja tidak cukup baik untuk pengendalian penyakit ini. Dengan tambahan pengobatan pada waktu kering dan khususnya pengafkiran bagi yang terinfeksi kronis diperlukan untuk menurunkan IMI oleh *Staphylococcus aureus*.

Pengetahuan yang detail tentang bakteri *Staphylococcus aureus* akan memberikan gambaran bahwa pemberantasan pada saat ini masih belum memungkinkan, khususnya adanya *Staphylococcus aureus* yang memproduksi beberapa faktor virulensi. Jadi investigasi dalam tingkat biologi molekuler harus dilakukan untuk pemecahan masalah mastitis.

Pada penelitian ini digunakan 308 sampel sapi perah yang diambil susunya untuk diperiksa angka prevalensi mastitis. Sampel diambil dari Peternakan Surabaya sebanyak 22 ekor, Peternakan Grati sebanyak 117 ekor, Peternakan Batu sebanyak 71 ekor, dan Peternakan Nongkojajar sebanyak 98 ekor. Dari sampel susu mastitis dilakukan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan kriteria yang meliputi bentuk mikroskopis kokus bergerombol, sifat hemolisis tipe β , katalase (+), koagulase (+) dan Gram (+). Penentuan variabilitas strain *Staphylococcus aureus* dengan mempergunakan pendekatan gen penyandi protein permukaan bakteri yang meliputi gen koagulase, gen protein A dan gen *clumping factor* dengan metode PCR, ekspresi gen koagulase, gen protein A dan gen *clumping factor* dengan metode SDS-PAGE dan pendekatan dengan memakai uji sensitivitas antibiotika.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa angka prevalensi mastitis sapi perah dari masing-masing peternakan sapi perah adalah : peternakan sapi perah Surabaya dengan angka prevalensi 86,4%, peternakan sapi perah Grati dengan angka prevalensi 79,5%, peternakan sapi perah Batu dengan angka prevalensi 83,1%, dan peternakan sapi perah Nongkojajar dengan angka prevalensi 82,7%. Isolat *Staphylococcus aureus* yang didapat dari berbagai peternakan tersebut sebagai berikut dari peternakan Surabaya 5 isolat, peternakan Grati 12 isolat, peternakan Batu 6 isolat, dan peternakan Nongkojajar 8 isolat. Dengan pendekatan genotipik memakai berat molekul gen penyandi koagulase didapatkan 4 polimorfisme yaitu besar molekul 600, 680, 740 dan 850 bp; pendekatan genotipik memakai besar molekul gen penyandi protein A didapatkan 2 polimorfisme yaitu besar molekul 110 dan 220 bp; pendekatan genotipik memakai besar molekul gen penyandi *clumping factor*

didapatkan 2 polimorfisme yaitu besar molekul 950 dan 1000 bp. Hasil ekspresi protein dari gen penyandi permukaan bakteri tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Kebanyakan isolat dari Surabaya resisten terhadap antibiotika eritromisin dibandingkan dengan isolat dari ketiga peternakan lainnya jika diuji sensitivitas antibiotika terhadap eritromisin, dan juga terdapat perbedaan yang signifikan antara isolat dari Nongkojajar dibandingkan dengan isolat dari ketiga peternakan lainnya jika diuji sensitivitas antibiotika terhadap penisilin dan ampisilin.

Berpijak pada hasil analisis yang diperoleh dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa gen penyandi koagulase (*coa*), gen penyandi protein A (*spa*) dan gen penyandi *clumping factor* (*clfa*) dapat menentukan adanya variabilitas genetik *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis sapi perah di Jawa Timur. Ekspresi protein gen penyandi permukaan bakteri *Staphylococcus aureus* tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Variabilitas fenotipik berdasarkan uji sensitivitas antibiotika memperlihatkan isolat *Staphylococcus aureus* dari Nongkojajar resisten terhadap penisilin dan ampisilin, sedangkan isolat *Staphylococcus aureus* dari Surabaya resisten terhadap eritromisin. Dengan demikian maka hasil penelitian dapat dipakai sebagai dasar pengobatan yang lebih akurat pada kasus mastitis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

SUMMARY

Strains Variability of *Staphylococcus aureus* Isolated from Milk of Cows with Mastitis in East Java through Encoding Genes for Surface Protein Approaching and Antibiotic Susceptibility

Mustofa Helmi Effendi

Mastitis is an inflammation of the udder and is common in dairy herds which causing important economic losses. It cannot be eradicated but can be reduced to low levels by good management of dairy cows. Mastitis causes direct economic losses to farmers in several ways; milk yields are reduced, milk that is abnormal or contaminated with antibiotics is unsaleable, there are veterinary and antibiotic costs, a higher culling rate and occasional fatalities. The milk processing industry also incurs losses because of problems that result from antibiotic in milk, and the reduced chemical and bacterial quality of mastitic milk.

Understanding to the epidemiology of *Staphylococcus aureus* (reservoirs, transmission pathways, and risk factors) has resulted in excellent control of this major mastitis pathogen in many herds. The major breakthrough in controlling *Staphylococcus aureus* came with the realization that it was primarily transmitted from cow to cow during the milking process. Milking time hygiene measures that decreased cow to cow transfer were largely responsible for decreasing new *Staphylococcus aureus* intramammary infections (IMI). However, milking time hygiene alone was insufficient in controlling the disease. The addition of dry-cow therapy, and especially, culling the chronically infected were needed to achieve low levels of *Staphylococcus aureus* IMI. The knowledge of the sources of *Staphylococcus aureus* would suggest that total eradication is not currently possible, especially because *Staphylococcus aureus* produce virulence factors. Therefore, investigation in molecular biology level on *Staphylococcus aureus* should be done to solve mastitis problems.

The experiment used 308 cows that were collected for prevalence rate of mastitis. Surabaya dairy herd, Grati dairy herd, Batu dairy herd, and Nongkojajar dairy herd were 22 samples, 117 samples, 71 samples, and 98 samples, respectively. From mastitic milk samples could be identified *Staphylococcus aureus* isolates by using criteria such as : Staphylococci are perfectly spherical cells about 1 micrometer in diameter and grow in clusters, β hemolysis, coagulase (+), catalase (+) and Gram (+). Determination of strains variability of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis in East Java was done through approaching of encoding genes for surface protein (coagulase, protein A and clumping factor) by PCR, proteins gene expression by SDS-PAGE electrophoresis and antibiotic susceptibility.

The result showed that prevalence rate of bovine mastitis : in Surabaya, Grati, Batu and Nongkojajar dairy herd were 86,4%, 79,5% 83,1%, and 82,7%, respectively. Whereas the number of isolates of *Staphylococcus aureus* were 5, 12, 6, and 8 isolates each from Surabaya, Grati, Batu and Nongkojajar dairy herd, respectively. Molecular size of encoding gene of coagulase are 4 polymorphisms : 600 bp, 680 bp, 740 bp and 850 bp. Molecular size of encoding gene of protein A are 2 polymorphisms : 110 bp and 220 bp. Molecular size of encoding gene of clumping factor are 2 polymorphisms: 950 bp and 1000 bp. The proteins expression of gene for surface protein showed that there were no significant different on band pattern. The majority of isolates from Surabaya dairy herd were resistant against erythromycin compared with others, however there were significant different on penicillin and ampicillin antibiotic susceptibility between isolates from Nongkojajar dairy herd compared with others

Based on these results can be concluded that the encoding genes of coagulase, protein A and clumping factor can be used to determine there are strain variability on *Staphylococcus aureus* which were isolated from bovine mastitis in East Java. Environmental factors have no effect on protein expression of encoding genes for surface protein. The majority isolates *Staphylococcus aureus* from Surabaya dairy herd were resistant against erythromycin antibiotic

and isolates *Staphylococcus aureus* from Nongkojajar dairy herd were resistant against penicillin and ampicillin antibiotics. Therefore, these results can be used as a reference for more accurate therapy on Staphylococcal mastitis.



ABSTRACT**Strains Variability of *Staphylococcus aureus* Isolated from Milk of Cows with Mastitis in East Java through Encoding Genes for Surface Protein Approaching and Antibiotic Susceptibility****Mustofa Helmi Effendi**

The purpose of this research was to find out the presence of strains variability in *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis in East Java. Taxonomically, the genus *Staphylococcus* is in the bacterial family *Micrococcaceae*. Staphylococci are perfectly spherical cells about 1 micrometer in diameter. They grow in clusters because staphylococci divide in two planes. The catalase test is important in distinguishing streptococci (catalase-negative) from staphylococci, which are vigorous catalase-producers. *Staphylococcus aureus* forms a fairly large yellow colony on rich medium, *Staphylococcus epidermidis* has a relatively small white colony. *S. aureus* is often hemolytic on blood agar; *Staphylococcus epidermidis* is non hemolytic. Staphylococci are facultative anaerobes that grow by aerobic respiration or by fermentation that yields principally lactic acid. *S. aureus* can grow at a temperature range of 15 to 45 degrees and at NaCl concentrations as high as 15 percent. Nearly all strains of *Staphylococcus aureus* produce the enzyme coagulase, however nearly all strains of *Staphylococcus epidermidis* lack this enzyme.

By encoding genes for surface protein of *Staphylococcus aureus* approaching showed confirmed appearance with polymorphisms. In these results showed that encoding gene for coagulase there are four polymorphisms with molecular size 600, 680, 740 and 850 bp; encoding gene for protein A there are two polymorphisms with molecular size 110 and 220 bp; and encoding gene for clumping factor there are two polymorphisms with molecular size 950 and 1000 bp. Protein expression of *coa*, *spa* and *clfa* genes of *Staphylococcus aureus* isolates from four dairy herds showed there are no different on band pattern by using SDS-PAGE electrophoresis.

Antibiotic susceptibility showed that there are two isolates of *Staphylococcus aureus* which resistance for antibiotic. The majority of isolates of *Staphylococcus aureus* from Surabaya dairy herd were resistance against erythromycin and isolates of *Staphylococcus aureus* from Nongkojajar dairy herd were resistance against penicillin and ampicillin.

Based on these results, it is suggested that strain variability of *Staphylococcus aureus* may indicate relative importance in mastitis control, especially to give accurate therapy on cows with staphylococcal mastitis.

Key words : *Staphylococcus aureus*, mastitis, encoding genes, surface protein, antibiotic susceptibility

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PRASYARAT GELAR	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	xi
SUMMARY	xiv
ABSTRACT	xvii
DAFTAR ISI	xviii
DAFTAR GAMBAR	xx
DAFTAR TABEL	xxii
DAFTAR LAMPIRAN	xxiii
DAFTAR SINGKATAN	xxiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Mastitis	11
2.1.1 Sumber Mikroorganismes Penyebab Mastitis	14
2.1.2 Dampak Ekonomi Mastitis	17
2.1.3 Pengendalian Mastitis dan Pengobatan	19
2.1.4 Proses Terjadinya Mastitis	23
2.1.5 Tinjauan Sistem Imun Hospes Terhadap Mastitis	25
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	36
2.2.1 Faktor Virulensi <i>Staphylococcus aureus</i>	39
2.2.2 Ekspresi dan Regulasi dari Faktor Virulensi	44
2.2.3 Pengaruh Faktor Lingkungan Terhadap Ekspresi Gen Penyandi Faktor Virulensi	47
2.3 Penggunaan Antibiotika di Bidang Peternakan	48
2.3.1 Antibiotika Untuk Bakteri Gram positif	49
2.4 Resistensi Terhadap Antibiotika	58
2.4.1 Dasar Genetik Untuk Resistensi Terhadap Antibiotika	64
2.5 Pengujian Resistensi Terhadap Antibiotika	67
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	69
3.1 Kerangka Konseptual	69
3.2 Bagan Kerangka Konseptual	73
3.3 Hipotesis.	74

BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN	75
4.1 Rancangan Penelitian	75
4.2 Populasi, Metode Sampling, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	75
4.3 Variabel Penelitian	77
4.4 Bahan Penelitian	79
4.5 Prosedur Penelitian	80
4.6 Analisis Data	86
4.7 Lokasi Penelitian	86
4.8 Kerangka Operasional Penelitian	88
BAB 5 HASIL PENELITIAN	89
5.1 Prevalensi Mastitis Sapi Perah	90
5.2 Identifikasi Isolat <i>Staphylococcus aureus</i>	92
5.3 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> dengan pendekatan genotipe gen penyandi protein permukaan bakteri.	93
5.4 Karakterisasi <i>Staphylococcus aureus</i> melalui ekspresi gen penyandi Protein permukaan bakteri.	95
5.5 Karakterisasi <i>Staphylococcus aureus</i> melalui metode <i>disk diffusion</i> untuk uji sensitivitas antibiotika.	97
BAB 6 PEMBAHASAN	104
6.1 Prevalensi Mastitis Sapi Perah	104
6.2 Identifikasi Isolat <i>Staphylococcus aureus</i>	109
6.3 Identifikasi Molekuler Gen Penyandi Permukaan Protein Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	111
6.4 Karakterisasi Ekspresi Gen Penyandi Protein Permukaan Bakteri	115
6.5 Uji Sensitivitas Antibiotika pada <i>Staphylococcus aureus</i>	124
6.6 Hasil Temuan	130
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	132
7.1 Kesimpulan	132
7.2 Saran	132
DAFTAR PUSTAKA	134
Lampiran	148

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Ambing sapi perah yang mengalami mastitis sehingga tampak pembengkakan dan kemerahan.	11
Gambar 2.2 Hasil uji CMT positif pada <i>paddle C</i> .	13
Gambar 2.3 Pengobatan mastitis pada sapi perah dengan sistem <i>intra Mammary</i>	21
Gambar 2.4 Proses terjadinya mastitis pada kelenjar susu sapi perah	24
Gambar 2.5 Gambaran mikroskop elektron <i>Staphylococcus aureus</i>	36
Gambar 2.6 Proses pembelahan <i>Staphylococcus aureus</i>	37
Gambar 2.7 Faktor virulensi yang dipunyai oleh <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Gambar 2.8 Patogenesis infeksi oleh <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Gambar 2.9 Sistem <i>accessory gene regulator</i> pada <i>Staphylococcus aureus</i> .	46
Gambar 2.10 Mekanisme kerja beberapa antibiotika	53
Gambar 2.11 Penghambatan antibiotika betalaktam pada sintesis dinding sel	55
Gambar 2.12 Proses perpindahan gen resistensi terhadap antibiotika	60
Gambar 2.13 Perpindahan resistensi antibiotika pada bakteri melalui plasmid	61
Gambar 2.14 Resistensi antibiotika melalui mutasi kromosom dalam bakteri	62
Gambar 2.15 Mekanisme resistensi utama antibiotika betalaktam	63
Gambar 2.16 Proses resistensi <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap antibiotika betalaktam	65
Gambar 2.17 <i>Staphylococcal Chromosome Cassette mec (SCCmec)</i> .	66
Gambar 2.18 Interpretasi Hasil Metode <i>Kirby Bauer Disk Diffusion</i>	68
Gambar 4.1 Pengambilan susu sebagai sampel untuk uji CMT	77
Gambar 4.2 Uji Katalase	81
Gambar 5.1 Sapi penderita mastitis klinis dari peternakan Batu	90
Gambar 5.2 Susu yang diambil dari sapi penderita mastitis klinis dan subklinis	91
Gambar 5.3 a. Mikroskopis kokus dengan pewarnaan Gram positif, b. Hasil uji koagulase	92
Gambar 5.4 a. Hasil uji hemolisis β , b. Hasil uji fermentasi pada MSA	92
Gambar 5.5 Gen penyandi koagulase	94
Gambar 5.6. Gen penyandi <i>clumping factor</i>	94
Gambar 5.7 Gen penyandi protein A	95
Gambar 5.8 Ekspresi gen penyandi protein permukaan bakteri dengan inkubasi 37 ⁰ C.	96
Gambar 5.9 Ekspresi gen penyandi protein permukaan bakteri dengan inkubasi 42 ⁰ C	96

Gambar 5.10 Zona resisten, zona <i>intermediate</i> dan zona sensitif pada uji sensitivitas antibiotika metode <i>disk diffusion</i> .	97
Gambar 5.11 Histogram rata-rata diameter zona hambat (mm) pada 4 lokasi peternakan sapi perah dengan cakram antibiotika eritromisin.	98
Gambar 5.12 Histogram perbandingan persentase antara sensitif (Sen), <i>intermediate</i> (Inter) dan resisten (Res) pada 4 lokasi peternakan sapi perah di Jawa Timur dengan cakram antibiotika eritromisin.	98
Gambar 5.13 Histogram rata-rata diameter zona hambat (mm) pada 4 lokasi peternakan sapi perah dengan cakram antibiotika <i>ciproxin</i> .	99
Gambar 5.14 Histogram perbandingan persentase antara sensitif (Sen), <i>intermediate</i> (Inter) dan resisten (Res) pada 4 lokasi peternakan sapi perah di Jawa Timur dengan cakram antibiotika <i>ciproxin</i> .	99
Gambar 5.15 Histogram rata-rata diameter zona hambat (mm) pada 4 lokasi peternakan sapi perah dengan cakram antibiotika tetrasiklin.	100
Gambar 5.16 Histogram perbandingan persentase antara sensitif (Sen), <i>intermediate</i> (Inter) dan resisten (Res) pada 4 lokasi peternakan sapi perah di Jawa Timur dengan cakram antibiotika tetrasiklin.	100
Gambar 5.17 Histogram rata-rata diameter zona hambat (mm) pada 4 lokasi peternakan sapi perah dengan cakram antibiotika <i>cephalexin</i> .	101
Gambar 5.18 Histogram perbandingan persentase antara sensitif (Sen), <i>intermediate</i> (Inter) dan resisten (Res) pada 4 lokasi peternakan sapi perah di Jawa Timur dengan cakram antibiotika <i>cephalexin</i> .	101
Gambar 5.19 Histogram rata-rata diameter zona hambat (mm) pada 4 lokasi peternakan sapi perah dengan cakram antibiotika ampisilin.	102
Gambar 5.20 Histogram perbandingan persentase antara sensitif (Sen), <i>intermediate</i> (Inter) dan resisten (Res) pada 4 lokasi peternakan sapi perah di Jawa Timur dengan cakram antibiotika ampisilin.	102
Gambar 5.21 Histogram rata-rata diameter zona hambat (mm) pada 4 lokasi peternakan sapi perah dengan cakram antibiotika penisilin.	103
Gambar 5.22 Histogram perbandingan persentase antara sensitif (Sen), <i>intermediate</i> (Inter) dan resisten (Res) pada 4 lokasi peternakan sapi perah di Jawa Timur dengan cakram antibiotika penisilin.	103

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	Differensiasi Genus <i>Staphylococcus</i> yang bersifat zoonosis	38
Tabel 2.2	Beberapa antibiotika yang efektif terhadap bakteri Gram positif	51
Tabel 5.1	Prevalensi Mastitis pada Sapi Perah di Empat Lokasi Peternakan Sapi Perah	91
Tabel 5.2	Isolat <i>Staphylococcus aureus</i>	93
Tabel 5.3	Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> dengan pendekatan genotipe gen penyandi protein permukaan bakteri.	93



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 : Faktor Virulensi <i>Staphylococcus aureus</i> berupa adhesin	148
Lampiran 2 : Faktor Virulensi <i>Staphylococcus aureus</i> yang berupa toksin dan Invasin	149
Lampiran 3 : Analisis Statistik Uji Resistensi <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap antibiotika Ampisilin	150
Lampiran 4 : Analisis Statistik Uji Resistensi <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap antibiotika Ciproxin	152
Lampiran 5 : Analisis Statistik Uji Resistensi <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap antibiotika Cephalexin	154
Lampiran 6: Analisis Statistik Uji Resistensi <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap antibiotika Eritromisin	156
Lampiran 7: Analisis Statistik Uji Resistensi <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap antibiotika Penisilin	157
Lampiran 8: Analisis Statistik Uji Resistensi <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap antibiotika Tetrasiklin	159
Lampiran 9: Tehnik Epidemiologi Molekuler yang Diaplikasikan pada Agen Penyebab <i>Staphylococcus aureus</i>	161
Lampiran 10: Analisis Regresi Karakterisasi Protein Permukaan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan suhu inkubasi 37° C.	162
Lampiran 11: Analisis Regresi Karakterisasi Protein Permukaan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan suhu inkubasi 42° C.	163
Lampiran 12: Data Produksi Susu di Jawa Timur	164

DAFTAR SINGKATAN

agr	accessory gene regulator
ANOVA	analysis of varians
AIP	auto inducing peptide
BM	berat molekul
bp	base pair
CMT	California Mastitis Test
clfA gene	clumping factor A gene
CNS	Coagulase Negative Staphylococci
coa gene	coagulase gene
DNA	deoxyribo nucleic acid
ET	epidermolytic toxin
ECM	extra celuller matrix
Ig	Immunoglobulin
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IVET	in vivo expression technology
IMI	Intramammary Infection
IL	Interleukin
kD	Kilo Dalton
MHC	Major Histocompatibility
MRSA	Methicillin resistant Staphylococcus aureus
MSA	Manitol Salt Agar
MSCRAMM	microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules
ORF	Open Reading Frame
PFGE	Pulsed-field gel electrophoresis
PCR	Polymerase Chain Reaction
PMN	Poly Morphonuclear
PBP	Penicillin Binding Protein
PBS	Phenol Buffer Saline
RNA	ribo nucleic acid
RFLP	restriction fragment lenght polymorphism
sar	staphylococcal accesory regulator
SCC	somatic cell count
SDS-PAGE	sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis
SE	staphylococcal enterotoxin
spa gene	staphylococcal surface protein A gene
STM	signature tagged mutagenesis
SCC <i>mec</i>	Staphylococcal Chromosome Cassette <i>mec</i>
TE	Tris-HCl EDTA
TSS	toxic shock syndrome
TSST	toxic shock syndrome toxin
TNF	Tumor Necrotic Factor
TH	T Helper
VCAM	Vascular Adhesion Molecule