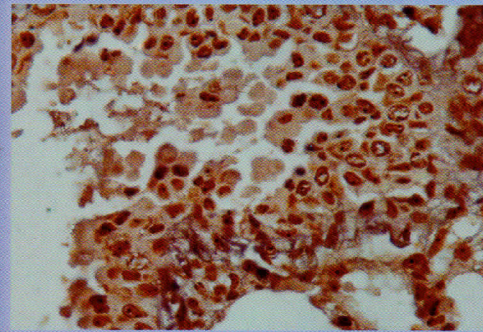
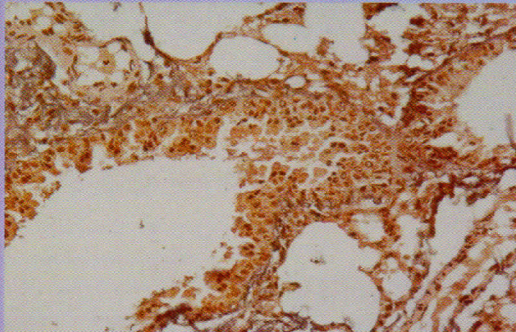
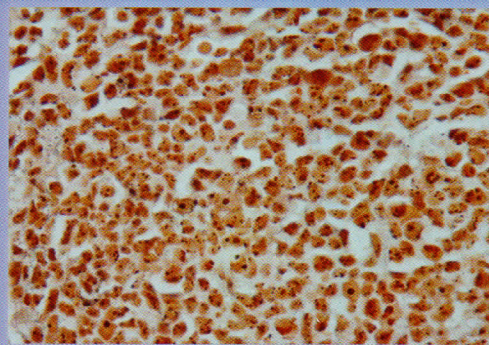
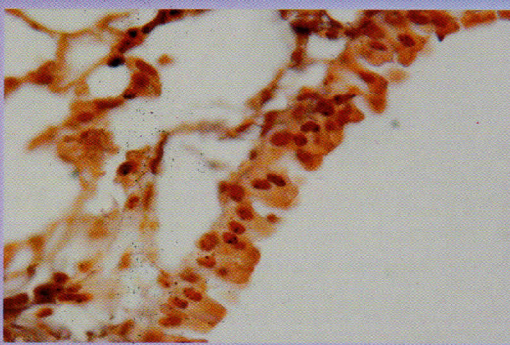


ISSN 0215-8930

MEDIA

Kedokteran Hewan

Veterinary Medicine Journal



MKH (Vet.Med.J.)	Vol. 24	No. 2	Hal. 68-138	Surabaya, Mei 2008	ISSN 0215-8930
------------------	---------	-------	-------------	--------------------	----------------

Akreditasi Dirjen Dikti No. 108/Dikti/Kep/2007
Tanggal 23 Agustus 2007

Media Kedokteran Hewan

Vol. 24, No. 2, Mei 2008

Media Kedokteran Hewan memuat tulisan ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan dan Peternakan

Terbit pertama kali tahun 1985 dengan frekuensi terbit tiga kali satu tahun pada bulan

Januari, Mei dan September

Susunan Dewan Redaksi

Ketua Penyunting :
Epy Muhammad Luqman

Sekretaris :
Erma Safitri

Bendahara :
Diah Kusumawati Gali

Iklan dan Langganan :
Budiarto

Penyunting Pelaksana :
Sri Subekti Bendryman Soedjoko
Mas'ud Hariadi
Fedik Abdul Rantam
Suwarno
Sri Agus Sudjarwo

Penyunting Teknik :
Kusnoto
Thomas Valentinus Widiyatno

Tata Usaha :
Berty Ferijanti

Alamat: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Kampus "C" Unair, Mulyorejo Surabaya 60115
Telp. (031) 5992785; 5993016; Fax. (031) 5993015
e-mail: mkh_ua@yahoo.com

Rekening: Tahapan BCA - No. 01-4018-9375 (Dr. Diah Kusumawati G.)

Media Kedokteran Hewan diterbitkan oleh **Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia (PDHI)**
dan **Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.**
Akreditasi Dirjen Dikti No. 108/Dikti/Kep/2007.

Media Kedokteran Hewan

Vol. 24, No. 2, Mei 2008

Ketentuan untuk Penulisan Naskah

1. Ketentuan Umum
 - a. Media Kedokteran Hewan memuat tulisan ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan dan Peternakan, berupa hasil penelitian, artikel ulasan *ajak* (*review*) dan laporan kasus baik dalam Bahasa Indonesia maupun Bahasa Inggris.
 - b. Naskah / makalah harus orisinal dan belum pernah diterbitkan. Apabila diterima untuk dimuat dalam Media Kedokteran Hewan, maka tidak boleh diterbitkan dalam majalah atau media yang lain.
2. Standar Penulisan
 - a. Makalah diketik dengan jarak 2 spasi, kecuali Judul, Abstrak, Judul tabel dan tabel, Judul gambar, Daftar Pustaka, dan Lampiran diketik menurut ketentuan tersendiri.
 - b. Alinea baru dimulai 3 (tiga) ketukan ke dalam atau (*First line 0.3"*) dari format paragraf.
 - c. Huruf standar untuk penulisan adalah Book Antiqua 11.
 - d. Memakai kertas HVS ukuran kuarto (8,5 x 11").
 - e. Menggunakan bahasa Indonesia atau bahasa Inggris.
 - f. Tabel / Ilustrasi / Gambar harus amat kontras, juga menyertakan *file scanning* (foto) terpisah dengan makalah dengan format file JPG. Keterangan Tabel, Gambar atau Penjelasan lain dalam Lampiran diketik 1 (satu) spasi.
3. Tata cara penulisan naskah / makalah ilmiah
 - a. Tebal seluruh makalah sejak awal sampai akhir 12-14 halaman.
 - b. Penulisan topik (Judul, Nama Penulis, Abstrak, Pendahuluan, Metode dst.) tidak menggunakan huruf kapital (*setence*) tetapi menggunakan *Title Case* dan diletakkan di pinggir (sebelah kiri).
 - c. Sistematika penulisan makalah adalah Judul (Bahasa Indonesia dan Inggris), Nama Penulis dan Identitas, Abstrakt dengan Key words, Pendahuluan, Metode Penelitian, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, Ucapan Terima Kasih (bila ada), Daftar Pustaka dan Lampiran (bila ada).
 - d. Judul harus pendek, spesifik, tidak boleh disingkat dan informatif, yang ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris.
 - e. Nama penulis di bawah judul, identitas dan instansi penulis harus jelas, tidak boleh disingkat dan ditulis di bawah nama penulis.
 - f. Abstrak maksimal terdiri dari 200 (dua ratus) kata, diketik 1 (satu) spasi dalam bahasa Indonesia dan Inggris.
 - g. Kata kunci (*key words*) maksimum 5 (lima) kata setelah abstrak.
 - h. Metode Penelitian memuat peralatan / bahan yang digunakan (terutama yang spesifik), prosedur penelitian dan analisis statistik (bila ada).
 - i. Daftar Pustaka disusun secara alfabetik tanpa nomor urut. Singkatan majalah/jurnal berdasarkan tata cara yang dipakai oleh masing-masing jurnal. Diketik 1 (satu) spasi dengan paragraf *hanging 0.3"* dan before 3.6 pt. Proporsi daftar pustaka, Jurnal/Majalah Ilmiah (60%), dan *Text Book* (40%). Berikut contoh penulisan daftar pustaka berturut-turut untuk *Text Book* dan Jurnal.

Roitt I, Brostoff J, and Male D. 1996. Immunology. 4th Ed. Black Well Scientific Pub. Oxford.

Staropoli I, Clement JM, Frenkiel MP, Hofnung M, and Deuble V. 1996. Dengue-1 virus envelope glycoprotein gene expressed in recombinant baculovirus elicits virus neutralization antibody in mice and protects them from virus challenge. Am.J. Trop. Med. Hygi. 45: 159-167.
4. Pengiriman makalah dapat dilakukan setiap saat dalam bentuk cetakan (*print out*) sebanyak 3 (tiga) eksemplar. Setelah ditelaah oleh Tim Editor MKH, makalah yang telah direvisi penulis segera dikembalikan ke redaksi dalam bentuk cetakan 1 (satu) eksemplar dengan menyertakan makalah yang telah direvisi dan 1 (satu) disket 3.5" (Progam MS Word/IBM Compatible) dikirim ke alamat redaksi: **Media Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jalan Mulyorejo, Surabaya 60115, Telepon 031-599.2785; 599.3016; Fax. 031-599.3015; e-mail : mkh_ua@yahoo.com**
5. Ketentuan akhir

Terhadap naskah/makalah yang dikirim, redaksi berhak untuk:

 - a. memuat naskah/makalah tanpa perubahan
 - b. memuat naskah/makalah dengan perubahan
 - c. menolak naskah/makalah
6. Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makalah.
7. Makalah yang telah dimuat dikenai biaya penerbitan dan biaya pengiriman.
8. Penulis / pelanggan dapat mengirimkan biaya pemuatan makalah / langganan lewat **transfer-bank** pada **Dr. Diah Kusumawati G.**, dengan nomor rekening **Tahapan BCA No. 01-4018-9375**.
9. Semua keputusan redaksi tidak dapat diganggu gugat dan tidak diadakan surat menyurat untuk keperluan itu.

Media Kedokteran Hewan

Vol. 24, No. 2, Mei 2008

Terbit tiap 4 bulan sekali, pada bulan Januari, Mei dan September

UCAPAN TERIMA KASIH

Redaksi, penulis dan pembaca Media Kedokteran Hewan memberikan penghargaan dan terimakasih yang setinggi-tingginya kepada para pakar di bawah ini, selaku mitra bestari yang telah menelaah semua tulisan baik yang dimuat maupun yang ditolak sesuai rekomendasi yang disampaikan pada redaksi dalam Volume 24 No.2, edisi Mei 2008.

Prof. Dr. Imam Mustofa, M.Kes., drh. (FKH UNAIR)

Dr. Suharjono, MS., drs., Apt. (UNAIR)

Prof. Widya Asmara, PhD., MS., drh. (UGM)

Prof. Dr. Siti Isrina Oktavia Salasia, drh. (UGM)

Dr. Sri Muharsini, drh. (BALITVET Bogor)

Prof. Ronny Rachman Noor, PhD., M.Rur.Sc., Ir. (IPB)

Media Kedokteran Hewan

Vol. 24, No. 2, Mei 2008

Terbit tiap 4 bulan sekali, pada bulan Januari, Mei dan September

DAFTAR ISI

	Halaman
12 Influence of Culture Media on Development of Intergeneric Canine Embryo Using Bovine Oocyte as Cytoplasmic Recipient (Yuda Heru Fibrianto)	68 – 73
13 Produksi Antibodi Anti-Idiotipe sebagai Alternatif Pengganti Virus Avian Influenza (Okti Nadia Poetri, Retno D. Soejoedono dan Sayu Putu Yuni Paryati)	74 – 79
14 Eksplorasi Protein Antigenik <i>Sarcoptes scabiei</i> var. <i>cuniculi</i> Penyebab Skabies pada Kelinci (Nunuk Dyah Retno Lastuti)	80 – 85
15 Kajian Molekuler Daerah D-Loop Parsial pada DNA Mitokondria <i>Tarsius bancanus</i> (Rini Widayanti)	86 – 91
16 Visualisasi Komponen Protein Permukaan <i>Staphylococcus aureus</i> dari Susu Sapi Perah Penderita Mastitis (Mustofa Helmi Effendi)	92 – 97
17 Suplementasi Minyak Jagung dalam Pakan Starter, Pengaruhnya pada Titer Antibodi, Berat dan Diameter Folikel Lien Anak Ayam Broiler yang Divaksinasi ND (Hana Eliyani)	98 – 103
18 Reseptor Insulin Like Growth Factor-I Complex Plasma Seminalis Kambing pada Sel-Sel Tubulus Seminiferus Tikus Putih (Suherni Susilowati)	104 – 109
19 Efek Kemoprotektif Daun Lidah Mertua (<i>Sansevieria trifasciata</i>) terhadap Tumor Paru yang Diinduksi dengan Benzo(A)Piren pada Mencit (<i>Mus Musculus</i>) (Yuli Purwandari K. dan Sitarina Widyarini)	110 – 117
20 Pengaruh Lingkar Skrotum terhadap Kualitas dan Kuantitas Sperma Kambing Bligon (Sigit Bintara, Soenarjo Keman, Sumadi dan Ali Agus)	118 – 123
21 Karakterisasi Fitase Kasar dari Bakteri Rekombinan <i>E. coli</i> BL21 (DE3)(+)pEAS1 (Adi Magna Patriadi Nuhriawangsa, Zaenal Bachruddin, Sajidan dan Ali Wibowo)	124 – 131
22 Distribusi G/A Snp pada Posisi Nukleotida Ke 1892 dari Sekuen DNA Gen Mx Ayam Hutan Indonesia (M. Syamsul Arifin Zein dan Sri Sulandari)	132 – 138

Visualisasi Komponen Protein Permukaan *Staphylococcus aureus* dari Susu Sapi Perah Penderita Mastitis

Visualization of Components of Bacterial Surface Protein of *Staphylococcus aureus* from Milk of Bovine Mastitis Cases

Mustofa Helmi Effendi

Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115.
Telp. 031-5992785, Fax.031-5993015, Email: mheffendi@yahoo.com

Abstract

The experiment was done to show the visualization of components of bacterial surface protein of *Staphylococcus aureus* from milk of bovine mastitis cases on several herds in East Java. Understanding of the epidemiology of *Staphylococcus aureus* has resulted in excellent control to 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. Therefore, investigation in molecular biology level by visualization of components of bacterial surface protein of *Staphylococcus aureus* should be done to solve mastitis problems. Detection mastitis cases used CMT test. milk samples were collected from mastitic cases at the afternoon milking time. Preparation of pure culture of *Staphylococcus aureus* were confirmed by MS agar, hemolytic activity, catalase and coagulase tests. The result showed that components of surface protein of isolates *Staphylococcus aureus* from several dairy herds were similar band pattern. The molecular weight of bacterial surface protein were 40, 55 and 86 kDa.

Key words: bacterial surface protein, *Staphylococcus aureus*, bovine mastitis

Pendahuluan

Mastitis merupakan penyakit yang berpengaruh besar dalam peternakan sapi perah. Mastitis tersebut terkait dengan masalah ekonomi, produktivitas, perdagangan internasional dan masalah kesejahteraan hewan yang membuat penyakit ini penting dalam industri persusuan di bidang pertanian (Owen *et al.*, 2001).

Mastitis dibagi dua yaitu mastitis kontagiosa dan mastitis lingkungan. Mastitis kontagiosa merujuk pada sistem penularan dari sapi ke sapi. Habitat utama bakteri yang menyebabkan mastitis terletak pada kulit ambing dan luka puting. Mastitis kontagiosa sering berbentuk mastitis subklinis. Infeksi ditularkan melalui peralatan pemerahan, termasuk dari tangan pemerah. Sebagian besar bakteri penyebab mastitis kontagiosa adalah *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus agalactiae* (Morin and Hurley, 2003).

Mastitis lingkungan merujuk pada sistem penularan dari lingkungan ke sapi. Bakteri dari lingkungan menyebabkan terjadinya mastitis pada sapi perah. Angka kejadian mastitis lingkungan cenderung meningkat yang disebabkan sanitasi lingkungan

yang jelek. Habitat utama bakteri penyebab mastitis lingkungan adalah ditemukan di lingkungan termasuk di feses, tanah, air dan jerami untuk tidurnya sapi. Sebagian besar bakteri penyebab mastitis lingkungan adalah bakteri coliform, *Streptococcal* sp. dan *Pseudomonas* sp. (Morin and Hurley, 2003).

Mastitis sering terjadi secara subklinis sehingga tidak tampak perubahan pada susu maupun pada ambing, tetapi terjadi peningkatan *somatic cell count* (SCC) (Roberson *et al.*, 1994). SCC merujuk pada *polymorphonuclear neutrophilic leukosit* (PMN) dan sel-sel lainnya yang bergerak ke kelenjar susu dalam jumlah besar selama proses infeksi. Keberadaan SCC dalam ambing yang disekresikan ke dalam susu menyebabkan perubahan kandungan susu. Penurunan SCC menampakkan perbaikan kualitas susu yang dihasilkan, lama penyimpanan dan menghasilkan keju yang berkualitas bagus (Green, 2003). Keberadaan SCC dalam jumlah besar di dalam susu mengindikasikan adanya infeksi mastitis baik yang klinis maupun subklinis, dan terdeteksi dengan menggunakan alat *California Mastitis Test* (CMT).

Staphylococcus aureus adalah penyebab mastitis yang penting dalam peternakan sapi perah. Ambing sapi perah terinfeksi merupakan sumber utama penyakit yang dapat menularkan *Staphylococcus aureus* ke sapi perah lainnya dalam peternakan (Roberson, 1999). Pencegahan terhadap penularan patogen dari sapi perah ke sapi perah lainnya dapat menurunkan angka kejadian mastitis. Mastitis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah sangat sulit untuk dikontrol oleh pengobatan (Jones, 1998) dan angka kejadian mastitis yang disebabkan *Staphylococcus aureus* merupakan angka kejadian tertinggi (Morin and Hurley, 2003). Keberhasilan pengendaliannya hanya melalui pencegahan infeksi baru, pengafkiran sapi terinfeksi *Staphylococcus aureus*. Mikroorganisme ini mungkin melakukan penetrasi ke lubang puting selama pemerahan dan berkembang menjadi infeksi baru.

Untuk lebih memahami tentang agen penyakit *Staphylococcus aureus*, maka diperlukan pendalaman pada tingkat subspecies untuk melihat sumber penyakit dan pola penyebarannya dalam populasi. Untuk itulah pemahaman tentang epidemiologi molekuler *Staphylococcus aureus* yang berkaitan dengan ekspresi protein permukaan bakteri harus tersedia. Hal ini berkaitan erat dengan kejadian mastitis pada sapi perah dan cara pengendaliannya.

Metode Penelitian

Deteksi dan diagnosis mastitis

Penentuan kasus mastitis berdasarkan visualisasi dan palpasi pada ambing. Dalam kasus mastitis klinis, ambing menjadi keras, kemerahan dan hangat. Palpasi pada ambing menyebabkan sapi kesakitan. Simptom ini merupakan perubahan dari sistem aliran darah di glandula mammae ketika terjadi peradangan.

Deteksi *Somatic cells* digunakan California Mastitis Test (CMT). Alat ini mendeteksi bentukan gel ketika DNA dalam somatic cells bereaksi dengan reagen. Reaksi terjadi pada paddle CMT dan dinilai secara subyektif (negatif, ringan, 1, 2, 3).

Identifikasi bakteri

Sampel dikultur pada media manitol salt (MS) agar dan dilanjutkan sub kultur pada agar darah untuk diidentifikasi, bentuk mikroskopis kokus bergelombang, sifat hemolisis β , katalase (+), koagulase (+) dan Gram (+) untuk identifikasi *Staphylococcus aureus*.

Preparasi protein dinding sel bakteri

Isolat *Staphylococcus aureus* dibiakan dalam *Lauryl broth* 300 ml dan diinkubasikan pada suhu 37°C dan 42°C selama 24 jam. Sampel disentrifuge 2

kali untuk mendapatkan *pellet* bakteri. *Pellet* dicuci dengan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) sebanyak 2 kali dan disentrifuge untuk mendapatkan *pellet* yang bersih. *Pellet* bakteri kemudian diberi PBS divortex dan dilanjutkan dengan pemecahan dinding sel bakteri dengan bantuan alat sonikator. Hasil pemecahan dinding sel bakteri disentrifuge dengan kecepatan tinggi. *Supernatan* ditampung sebagai ekstrak protein.

Analisis protein dengan SDS-PAGE

Analisis protein dilakukan dengan tehnik *sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) dengan komposisi *separating gel* 12% (2,5 ml acrylamide; 1,2 ml Tris H Cl pH 8,8; 1,2 ml SDS 0,5%; 1,1 ml aquadest, 50 μ l Temed dan 30 μ l APS 10%). Plate berisi gel kemudian dipasang pada Minigel twin G 42 slab dan dituangkan electrophorsis buffer (30,29 g Tris aminomethan; 144,13 g glisin; 10 g SDS dalam 1000 ml aquadest).

Sebanyak 15 μ l sampel ekstrak protein *Staphylococcus aureus* yang telah didenaturasi dengan *Lamili buffer* pada pemanasan 100°C selama 5 menit, dimasukkan ke dalam sumuran *separating gel*. Sebagai marker digunakan protein dengan berat molekul pada kisaran 14,5–200 kDa produksi Bio Rad. Elektroforesis dinyalakan dengan tegangan 40 V dengan kuat arus 10 mA dan ditingkatkan menjadi 120 V 25 mA ketika sampel melewati *separating gel*, dan proses elektroforesis diperlukan waktu sekitar 3-4 jam.

Pencucian terhadap gel hasil *running* dilakukan 3 tahap, masing-masing menggunakan metanol 50% dan asam asetat 7,5% selama 30 menit, metanol 5% dan asam asetat 7,5% selama 20 menit dan glutaraldehid 10% selama 25 menit. Gel kemudian diwarnai dengan pewarna perak nitrat selama 15 menit, dilanjutkan pencucian 2 kali 2 menit dengan aquadest dan kemudian ditambahkan larutan pengembang warna (200 μ l asam sitrat 5%; 100 μ l formaldehid 37% dalam aquadest 200 ml) dan dilakukan pencucian kembali selama 2 kali 2 menit. Setelah gel terwarnai perak nitrat kemudian dimasukkan dalam larutan asam asetat 10% untuk menghentikan proses pewarnaan. Selanjutnya gel dapat disimpan pada larutan gliserin 10%.

Hasil dan Pembahasan

Data mastitis sapi perah

Berdasarkan pada visualisasi dan palpasi ambing sapi perah untuk kasus mastitis klinis serta dengan alat deteksi CMT pada kasus mastitis subklinis, didapatkan data seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Mastitis pada Sapi Perah di Empat Lokasi Peternakan Sapi Perah

Peternakan sapi perah	Sampel sapi	Mastitis klinis (%)	Mastitis subklinis (%)	Normal (%)	Total mastitis (%)
Surabaya	22	0	19 (86,4%)	3 (13,6%)	19 (86,4%)
Grati	117	0	93 (79,5%)	24 (20,5%)	93 (79,5%)
Batu	71	3 (4,2%)	56 (78,9%)	12 (16,9%)	59 (83,1%)
Nongkojajar	98	5 (5,1%)	76 (77,6%)	17 (17,3%)	81 (82,7%)

Identifikasi isolat *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan pada uji mikroskopis dan pewarnaan Gram, uji katalase, kemampuan fermentasi MSA, bentuk hemolisis β dan uji koagulase, maka dapat teridentifikasi isolat *Staphylococcus aureus*. Hasil isolasi *Staphylococcus aureus* ini didasarkan atas rujukan yang dideskripsikan oleh Mylotte (2003) seperti Tabel 2, serta hasilnya dalam Gambar 1 dan Tabel 3.

Tabel 2. Differensiasi *Staphylococci* (Mylotte, 2003)

Test	<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Katalase	+	+	+
Fermentasi MSA	+	+	-
Gram	+	+	+
Hemolisis β	+	-	-
Koagulase	+	-	-

Tabel 3. Hasil Identifikasi Isolat *Staphylococcus aureus*

Lokasi peternakan sapi perah	Isolat bakteri	<i>S. aureus</i>
Surabaya	19	5 (26,3%)
Grati	93	12 (12,9%)
Batu	59	6 (10,17%)
Nongkojajar	81	8 (9,9%)

Identifikasi *Staphylococcus aureus* bertujuan untuk memperoleh isolat murni dari kasus mastitis sapi. Dalam identifikasi ini digunakan metode standar yaitu berupa uji mikroskopis, pengecatan Gram, uji fermentasi pada Manitol Salt Agar, uji katalase, uji hemolisis dan uji koagulase yang berguna untuk membedakan dengan berbagai spesies *Staphylococcus* yang menginfeksi kelenjar susu sapi perah.

Infeksi *Staphylococcus aureus* yang terjadi sering dengan manifestasi subklinis, maka upaya dari penelitian ini adalah untuk mengamati dan menilai

keberadaan *Staphylococcus aureus* melalui pendekatan metode standar laboratorium. Organisme yang diisolasi dari sampel susu yang ditumbuhkan ke MS agar yang mengandung 7,5% sodium chloride akan membatasi pertumbuhan organisme lainnya, tetapi genus *Staphylococcus* dapat tumbuh. Spesies *Staphylococcus* yang lain yang tumbuh dan dapat diidentifikasi adalah antara lain *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Setelah dilakukan identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan metode standar laboratorium diperoleh isolat *Staphylococcus aureus* berjumlah 31 isolat. Sisanya positif spesies *Staphylococcus* yang lain dalam jumlah yang menyebar antara lain *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus* dan sebagian merupakan genus dari *Streptococcus spp* yang ditandai dengan uji katalase negatif dan berbentuk mikroskopis rantai kokus (Effendi, 2006).

Visualisasi protein permukaan bakteri *S. aureus*

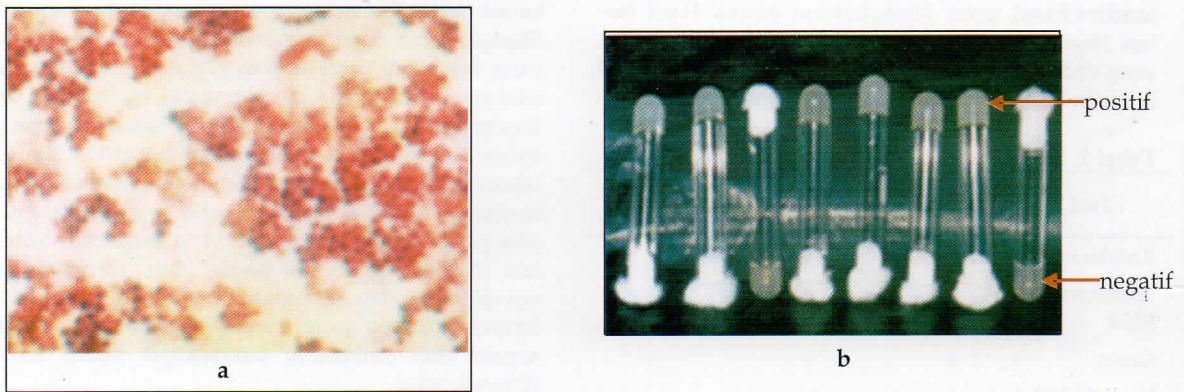
Pada penelitian ini, penulis memvisualisasikan beberapa protein permukaan bakteri *Staphylococcus aureus*. Protein tersebut adalah protein dengan berat molekul 40 kDa, 55 kDa dan 86 kDa (Gambar 2). Protein dengan berat molekul (BM) 40 kDa berupa *clumping factor*, protein dengan BM 55 kDa berupa protein A, dan protein dengan BM 86 kDa berupa protein koagulase.

Protein *clumping factor* dengan BM 40 kDa merupakan protein yang diekspresikan pada fase pertumbuhan stasioner yang berasosiasi dengan permukaan sel bakteri. Protein ini mengikat protein hospes yang berupa *fibronectin*, *fibrinogen*, *collagen* dan *vitronectin*. Protein *clumping factor* bertanggung jawab untuk interaksi antara Fg dengan *Staphylococcus aureus* (Shannon, 2005). Ketika protein *clumping factor* mengikat plasma maka terbentuk sebuah kompleks Fg yang merupakan fenomena yang terkait dengan sifat patogenik dari *Staphylococcus aureus* (Wann et al., 1994). Fg merupakan protein yang dikonversi oleh thrombin ke bentuk fibrin yang esensial dari pembekuan darah. Protein *clumping factor* diekspresikan in

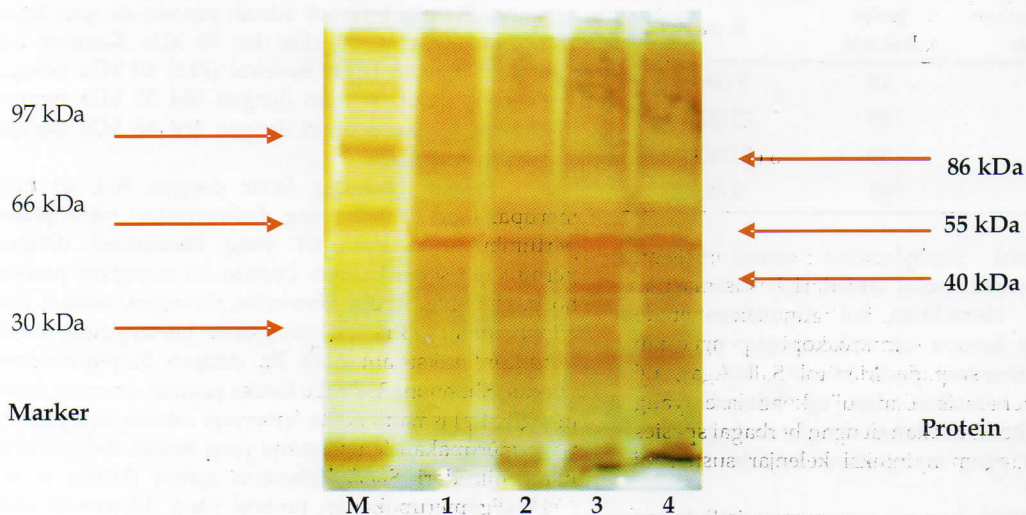
in vitro pada semua tahap pertumbuhan bakteri (Wann *et al.*, 2000) dan protein ini dapat digunakan sebagai proteksi dalam hewan coba yang sepsis. Menurut Woltz *et al.*, (2002) menyatakan bahwa untuk meningkatkan perlekatan antara bakteri dan sel hospes, maka *Staphylococcus aureus* mengeluarkan beberapa adhesin yang spesifik yang terletak pada permukaan bakteri yang disebut *microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules* (MSCRAMMs). Perlekatan spesifik *Staphylococcus aureus* ke fibrinogen utamanya dimediasi oleh *clumping factor*. Protein *clumping factor* mempunyai tanggung jawab untuk mediasi perlekatan *Staphylococcus aureus* ke *matrix proteins* yang merupakan sebuah langkah penting dalam proses infeksi (Patti *et al.*, 1994).

Fibrinogen diidentifikasi sebagai bahan utama yang terkait dengan protein plasma (Wann *et al.*, 2000), fibrinogen diubah oleh thrombin ke bentuk fibrin yang merupakan bahan untuk pembekuan darah. Masing-masing fibrinogen monomer terdiri dari tiga rantai polipeptida (? , ? dan ?). Tempat pengikatan *clumping factor* dari *Staphylococcus aureus* adalah di C terminus dari rantai ? (Wann *et al.*, 2000; Deivanayagam *et al.*, 2002).

Dalam penelitian Woltz *et al.*, (2002) memperlihatkan bahwa tidak ada perbedaan dalam transkripsi *clumping factor* antara *Staphylococcus aureus* yang berasal dari berbagai sumber infeksi maupun yang berasal dari awal atau akhir suatu infeksi.



Gambar 1. a. Mikroskopis kokus dengan pewarnaan Gram positif; b. Hasil uji koagulase



Gambar 2. Visualisasi protein permukaan bakteri dengan inkubasi 37 C. Lajur M adalah penanda protein 14- 200 kDa, lajur 1 isolat Surabaya, lajur 2 isolat Grati, lajur 3 isolat Batu, lajur 4 isolat Nongkojajar

Ekspresi protein A dengan BM 55 kDa jumlahnya menurun pada fase pertumbuhan stasioner. Protein A diekspresikan oleh kebanyakan adhesin *Staphylococci* yang termasuk famili MSCRAMMs. Protein A diekspresikan selama fase pertumbuhan eksponensial dan ditranskripsikan menurun dalam regulasi selama fase pertumbuhan post eksponensial (Pei, 2001). Proses ini melibatkan sistem *accessory gene regulator (Agr)* dan sistem *quorum sensing global regulatory* dari *Staphylococcus aureus*.

Protein A mengikat Fc region dari imunoglobulin dari kebanyakan mamalia (Hartleib *et al.*, 2000). Fungsi protein spa yang mengikat Fc region merupakan kontributor dalam faktor virulensi dari bakteri tersebut karena berkompetisi dengan sel fagosit dalam penyediaan tempat IgG-Fc yang mengakibatkan hilangnya kemampuan opsonisasi (Patti *et al.*, 1994). Dalam fungsi mengikat imunoglobulin, protein A tampak mengaktifkan komplemen juga merupakan faktor virulensi dari *Staphylococcus aureus* (Haris *et al.*, 2003).

Protein koagulase dengan BM 86 kDa merupakan ekstraseluler dari *Staphylococcus aureus* yang meningkatkan perlekatan *Staphylococcus aureus* dengan komponen dari hospes (Wisell, 2000). Kemampuan dari protein ini untuk mengagregasi memungkinkan bentuk gerombolan pada koloni bakteri. Kemampuan perlekatan ini ditunjang oleh protein yang diekspresikan permukaan bakteri seperti *Clf*, *Fn binding protein*, *collagen binding protein*, *vitronectin binding protein*. Hal ini meningkatkan patogenitas dari *Staphylococcus aureus*. Protein koagulase diproduksi *in vitro* dalam fase pertumbuhan eksponensial dan terdiri dari *Fg binding (C terminus)* dan *prothrombin binding domain (N terminus)* (Wann *et al.*, 2000).

Untuk meningkatkan kemampuan menyebabkan mastitis, *Staphylococcus aureus* di samping mengekspresikan sejumlah protein permukaan bakteri yang berfungsi dalam perlekatan dengan sel hospes (Lowy, 1998) maka *Staphylococcus aureus* mengembangkan sistem sistem *quorum sensing* yang berfungsi untuk komunikasi antar sel bakteri dan juga regulasi untuk kolonisasi hospes dan faktor virulensi (Yarwood and Schlievert, 2003).

Sistem *agr* dan *quorum sensing* menurunkan ekspresi beberapa protein permukaan bakteri dan meningkatkan sekresi beberapa faktor virulensi dalam transisi dari akhir fase pertumbuhan eksponensial ke fase stasioner secara *in vitro* (Vuong *et al.*, 2003). Sistem *agr* dan *quorum sensing* didesain untuk model patogenitas *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus dalam menginfeksi kelenjar susu dalam jumlah sedikit, bakteri mengekspresikan faktor virulensi berupa protein permukaan bakteri untuk menetralkan faktor kekebalan dari

hospes. Protein A mengikat bagian Fc dari IgG dan *clumping factor* membantu membentuk gumpalan pus di tempat infeksi (Yarwood and Schlievert, 2003), maka tempat infeksi akan kekurangan nutrisi yang disebabkan peningkatan jumlah bakteri yang mengakibatkan bakteri menyebar ke tempat jaringan hospes lainnya.

Pada mastitis yang disebabkan *Staphylococcus aureus*, patogenesis adalah multifaktorial dan sampai saat ini kurang dimengerti. Sifat patogenesis dari *Staphylococcus aureus* tergantung dari dua hal penting yaitu faktor virulensi dan sifat host (Cunningham *et al.*, 1996). Pathogenesitas dari *Staphylococcus aureus* adalah kemampuan untuk menyebabkan penyakit dalam host, sedangkan faktor virulensi adalah produksi dari kuman yang dapat menyebabkan infeksi dan meningkatkan kemampuannya untuk menyebabkan penyakit (Wisell, 2000; Cunningham *et al.*, 1996).

Faktor virulensi termasuk di dalamnya adalah faktor permukaan kuman (protein, dinding sel peptidoglycan, kapsul polysakarida, protein A); enzim *hydrolytic (nucleases, hyaluronidase, proteases dan collagenase)*, fungsi utama adalah merubah jaringan lokal menjadi nutrisi untuk kebutuhan kuman; faktor biokimia yang dapat meningkatkan kemampuan intraseluler (carotenoids, produksi catalase); resistensi terhadap antibiotika (β lactamases dan *penicillin binding proteins*) (Akineden *et al.*, 2001).

Faktor permukaan merupakan hal utama dari *Staphylococcus aureus* sebagai bahan mempromosi kolonisasi ke jaringan host, hal ini didasarkan bahwa bahan ini diekspresikan pertama kali pada saat fase pertumbuhan eksponensial (Lowy, 1998). Beberapa protein permukaan menampakkan sifat *adhesive* yang disebabkan *ligand-binding domains* seperti protein A, yang mempunyai sifat *anti-phagocytic* yang didasarkan atas kemampuan untuk mengikat Ig G dan leukosit *polymorphonuclear* pada regio Fc. Secara struktural dan fungsional protein ini termasuk MSCRAMM yang termasuk di dalamnya adalah *fibronectin* dan *collagen-binding protein* (Wann *et al.*, 2000), dan juga *clumping factor* yang merupakan protein berfungsi mengikat fibrin dan mempromosi terbentuknya gumpalan darah pada jaringan traumatik (Todar, 2002).

Kesimpulan

Hasil penelitian secara keseluruhan dari penelitian ini dapat disimpulkan sebagai hal berikut : Pola protein permukaan bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal kasus mastitis sapi perah dari beberapa peternakan sapi perah dengan BM berkisar antara 40 kDa, 55 kDa dan 86 kDa menunjukkan pola yang sama diantara *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari sapi perah yang menderita mastitis dari berbagai daerah di Jawa Timur.

Daftar Pustaka

- Akineden O, Annemuller C, Hassan AA, Laemler C, Wolter W and Zschok M. 2001. Toxin Genes and Other Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolates from Milk Cows with Mastitis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 8, 959 - 964.
- Cunningham R, Cockayne A and Humphreys H. 1996. Clinical and Molecular Aspects of the Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* bone and joint infections. *J. Med. Microbiol.* 44, 157 - 164.
- Deivayagam CCS, Wann ER, Chen W, Carson M, and Narayana VL. 2002. A Novel variant of the immunoglobulin fold in surface adhesins of *Staphylococcus aureus*: Crystal structure of the Fibrinogen-Binding MSCRAMM, Clumping Factor. *The EMBO J.*, 21: 6660-6672.
- Effendi MH. 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, PPS Universitas Airlangga, Surabaya.
- Foster TJ and Mc Devitt D. 1994. Surface-associated proteins of *Staphylococcus aureus*: their possible roles in virulence. *FEMS Microbiol. Lett.* 118, 199-205.
- Green MJ. 2003. Clinical Mastitis in Dairy Cows: Studies of Bacterial Ecology and somatic Cell Count Patterns. Doctoral Thesis, University of Warwick.
- Haris LG, Foster SJ and Richards RG. 2003. An Introduction to *Staphylococcus aureus*, and Techniques for Identifying and Quantifying *S. aureus* Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials : Review. Academic Paper, AO Research Institute, Switzerland.
- Hartleib J, Kohler N, Dickinson RB, Chatwal GS, and Hermann M. 2000. Protein A is the von Willebrand Factor Binding Protein on *Staphylococcus aureus*. *Blood*, 96: 2149-2158.
- Jones GM. 1998. *Staphylococcus aureus* Mastitis: Cause, Detection and Control. Virginia Cooperative Extension, USA.
- Lowy FD. 1998. *Staphylococcus aureus* Infection. *England Journal of Medicine*. 339, 520 - 532.
- Morin DE and Hurley WL. 2003. Mastitis Lesson B. University of Illinois, USA.
- Mylotte JM. 2003. Genus *Staphylococcus*. Buffalo School of Medicine and Biomedical Sciences. www.smbs.buffalo.edu/id
- Owens WE, Nickerson SC, Boddie RL, Tomita GM, and Ray CH. 2001. Prevalence of Mastitis in Dairy Heifers and effectiveness of Antibiotic Therapy. *J. Dairy Sci.* 84: 814.
- Patti JM, Bremel T, Abdelnour A, Ryden C, and Hook M. 1994. The *Staphylococcus aureus* Collagen Adhesin is a virulence Determinant in Experimental Septic Arthritis. *Infect Immun.* 62, 152 - 161.
- Pei L . 2001. A Fibrinogen Binding Protein from *Staphylococcus epidermidis*. Thesis, Karolinska University Press, Stockholm.
- Roberson JR, Fox LK and Besser TE. 1994. Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *J. Dairy Sci.* 77, 3354 -3356.
- Roberson JR. 1999. The Epidemiology of *Staphylococcus aureus* on Dairy Farms. Proc. Natl. Mastitis Council, USA.
- Shannon O. 2005. Biological Effects of Extracellular Fibrinogen Binding Protein in *Staphylococcus aureus* Infection. Doctoral Thesis, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden.
- Todar K. 2002. *Staphylococcus aureus*. University of Wisconsin, Dept of Bacteriology, Lecture Notes.
- Vuong C, Gerke C, and Otto M. 2003. Quorum sensing Control of Biofilm Factors in *Staphylococcus epidermidis*. *J. Infect. Dis.* 188: 706-718.
- Wann ER, Gurusiddappa S, and Hook M. 2000. The Fibronectin-binding MSCRAMM FnbpA of *Staphylococcus aureus* Newman. *Infect Immun.* 64, 3142-3147.
- Woltz C, Goerke C, Landmann R, and Fluckiger U. 2002. Transcription of Clumping Factor A in Attached and Unattached *Staphylococcus aureus* in Vitro and During Device related infection. *Infect. Immun.*, 70: 2758-2762.
- Wisell KT. 2000. Regulation of Virulence Gene Expression in *Staphylococcus aureus*. Thesis, Karolinska University Press, Stockholm.
- Yarwood JM and Schlievert PM. 2003. Quorum Sensing in *Staphylococcus aureus* Infections. *J. Clin. Invest.* 112: 1620-1625.