



## IDENTIFIKASI GEN ENTEROTOKSIN DAN EXFOLIATIF ISOLAT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ASAL SUSU SAPI PERAH DAN SUSU KAMBING DARI BOGOR

Budi Prasetyo  
FMIPA Universitas Terbuka  
e-mail: [budi-p@ut.ac.id](mailto:budi-p@ut.ac.id)

### ABSTRACT

*In humans, Staphylococcus aureus is an important pathogen as the cause of many cases of diseases such as food poisoning, skin infections, endocarditis, pneumonia, osteomyelitis, septic arthritis, and encephalitis. The experiment was conducted at the Laboratory Biotrop SEAMEO, Bogor aims to detect enterotoxin and exfoliative genes from Staphylococcus aureus isolates origin dairy cow milk and goat milk from the village of Cijeruk, Bogor. Research methods include preparation of DNA, 23S rRNA gene amplification, enterotoxin gene amplification and exfoliative gene amplification. Results of enterotoxin gene amplification (sea, seb) and exfoliative gene amplification (eta) against 2 isolates of S. aureus showed positive results, but negative for the exfoliative gene (etb). A positive result was indicated by the appearance of DNA fragments that have a specific length (121 bp sea, seb 477 bp, and 119 bp eta) according to the PCR products of reference and GeneBank database. It is concluded that the gene has been detected enterotoxin (sea, seb) and exfoliative (eta) on isolates of S. aureus origin dairy cow milk and goat milk from the village of Cijeruk, Bogor.*

*Keywords: cow's milk, enterotoxin gene, exfoliative gene, goat's milk, staphylococcus aureus*

### ABSTRAK

Pada manusia, *Staphylococcus aureus* merupakan patogen penting sebagai penyebab timbulnya berbagai kasus penyakit seperti keracunan makanan, infeksi kulit, endokarditis, pneumonia, osteomielitis, sepsis artritis, dan ensefalitis. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Seameo Biotrop, Bogor bertujuan mendeteksi gen enterotoksin dan exfoliatif isolat *Staphylococcus aureus* asal susu sapi perah dan susu kambing dari Desa Cijeruk, Bogor. Metode penelitian meliputi preparasi DNA, amplifikasi gen 23S rRNA, amplifikasi gen enterotoksin dan exfoliatif. Hasil amplifikasi gen enterotoksin (*sea*, *seb*) dan exfoliatif (*eta*) terhadap 2 isolat *S. aureus* menunjukkan hasil positif, tetapi negatif terhadap gen exfoliatif (*etb*). Hasil positif tersebut ditandai dengan munculnya fragmen DNA yang memiliki panjang spesifik (*sea* 121 bp, *seb* 477 bp, dan *eta* 119 bp) sesuai dengan produk PCR dari referensi dan *database GeneBank*. Disimpulkan bahwa telah dideteksi gen enterotoksin (*sea*, *seb*) dan exfoliatif (*eta*) pada isolat *S. aureus* asal susu sapi perah dan susu kambing dari Desa Cijeruk, Bogor.

Kata kunci: gen enterotoksin, gen exfoliatif, *staphylococcus aureus*, susu kambing, susu sapi perah

Sebagian besar kasus keracunan makanan yang berasal dari bakteri disebabkan oleh konsumsi makanan yang mengandung *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* dapat ditemukan di lingkungan hidup kita seperti di udara, kotoran, air, susu, dan makanan lainnya. Bahkan hewan maupun manusia sendiri merupakan reservoir utama bagi pertumbuhan *S. aureus*. Pada manusia, bakteri tersebut merupakan patogen penting sebagai penyebab timbulnya berbagai kasus penyakit seperti keracunan makanan, infeksi kulit, infeksi nosokomial (Loir, Baron, Gautier, 2003), endokarditis, pneumonia, osteomielitis, sepsis arthritis, dan ensefalitis (Tseng, Zhang, Stewart, 2004). Di samping faktor lingkungan turut berkontribusi terhadap peningkatan kontaminasi bakteri tersebut, rendahnya tingkat sanitasi manusia diduga pula sebagai pemicu masuknya *S. aureus* ke dalam rantai pangan sehingga terjadi keracunan (Hataka *et al.*, 2000, Loir, ., Baron, Gautier, 2003, Smyth *et al.*, 2006).

Beberapa kasus keracunan yang disebabkan oleh konsumsi makanan maupun minuman susu, di antaranya pada tahun 2007 telah terjadi keracunan makanan ringan (*snack*) di salah satu hotel di Padang dan berdasarkan hasil uji klinis laboratorium diketahui sampel makanan positif mengandung *S. aureus* (Gentina, Fionaliza, Nelisna, 2008). Pada tahun 2010, terjadi peristiwa keracunan makanan terhadap ratusan warga Desa Pasawahan Kecamatan Tarogong Kaler, Garut diduga kuat penyebabnya adalah *Staphylococcus aureus*, *Candida sp.*, dan *Basillus sp.* Hasil analisis Badan Pemeriksaan Obat dan Makanan (BPOM) terhadap beberapa kasus keracunan karena konsumsi minuman susu cenderung disebabkan oleh *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, seperti yang terjadi pada beberapa siswa SD di Cipayung, Jakarta Timur dan siswa SD di Kecamatan Sindangkart, Kabupaten Bandung pada tahun 2009 (Suwito, 2010).

Faktor virulensi *Staphylococcus aureus* terdiri atas antigen (*capsule* dan *adhesins*), enzim (*coagulase*, *lipase*, *hyaluronidase*, *staphylokinase*, dan *nuclease*), serta sebanyak 7 toksin yaitu  $\alpha$ -toksin,  $\beta$ -toksin,  $\delta$ -toksin, P-V Leukocidin, enterotoksin, exfoliatif toksin, dan toxic shock syndrome toxin (TSST) (Yarwood *et al.*, 2002). *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri berbahaya, karena mampu memproduksi racun yang disebut enterotoksin. Racun tersebut memiliki masa inkubasi 1-8 jam. Gejala yang ditimbulkan akibat keracunan tersebut di antaranya sakit perut, muntah, dan diare (Kitamoto *et al.*, 2009). Keracunan yang disebabkan oleh *S. aureus* tergolong dalam kasus intoksikasi, yakni tertelannya enterotoksin yang dihasilkan *S. aureus* melalui makanan (Bergdoll & Lee Wong, 2006). Enterotoksin stafilokoki dapat menyebabkan keracunan meskipun pada dosis yang sangat rendah, yaitu 0,5 ng/ml (Balaban & Rasooly, 2000).

Infeksi yang berhubungan dengan beberapa kasus keracunan makanan oleh *S. aureus* cenderung disebabkan oleh toksin yang khas yaitu TSST, enterotoksin, dan exfoliatif toksin (Dinges, Orwin, Schlievert, 2000, de Freitas *et al.*, 2008). Hasil riset Prasetyo & Kusumaningrum (2014), terdeteksi adanya gen penyandi TSST-1 pada isolat *S. aureus* asal susu kambing dan susu sapi perah dari Desa Cijeruk, Kecamatan Cijeruk, Bogor. Diduga kuat bahwa TSST yang dihasilkan oleh *S. aureus* merupakan penyebab utama keracunan makanan, karena banyaknya kemiripan aktivitas biologi antara TSST-1 dengan *staphylococcal enterotoksin*. Hal tersebut diperkuat oleh hasil penelitian Yarwood *et al.*, (2002) yang menyatakan bahwa, enterotoksin terlibat secara bersama dalam aktivitas biologi.

Dalam upaya melengkapi data informasi penelitian tentang keracunan makanan dan infeksi yang disebabkan oleh toksin *S. Aureus* agar menjadi lebih komprehensif maka dilakukan penelitian lanjut yang memfokuskan pada faktor virulensi enterotoksin dan exfoliatif toksin dari strain *S. Aureus* yang sama. Tujuan penelitian untuk mendeteksi gen enterotoksin dan exfoliatif asal isolat *S. aureus* susu sapi perah dan susu kambing yang berasal dari Desa Cijeruk, Bogor dengan PCR.

## METODE

Penelitian menggunakan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* asal susu sapi perah dan susu kambing dari Desa Cijeruk, Bogor. Penanda DNA (DNA marker) dan Primer, Media PAD/media plat agar darah, serta bahan kimia untuk preparasi DNA. Peralatan yang digunakan meliputi *Qiamp tissue kit*, mesin GeneAmp<sup>R</sup> PCR system 2400. Penelitian dilakukan di Laboratorium Seameo Biotrop, Bogor. Tahapan penelitian meliputi: a) preparasi *deoxyribonucleic acid* (DNA), b) desain primer, c) amplifikasi gen 23S rRNA, dan d) amplifikasi gen enterotoksin dan exfoliatif.

Di dalam kegiatan preparasi DNA, molekul DNA dari *S. aureus* diekstraksi dan dipurifikasi menggunakan *Qiamp tissue kit* (Qiagen, Hilden, Jerman) sesuai prosedur yang telah ditentukan oleh pabrik. Adapun desain primer oligonukleotida spesifik untuk gen 23S rRNA, *sea*, *seb*, *eta*, dan *etb* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Desain Primer Oligonukleotida Gen 23S rRNA, *sea*, *seb*, *eta*, dan *etb*

Gene	F/R	Urutan basa	Produk PCR
23S rRNA	F	AGCGAGTTACAAAGGACGAC	2720 bp
	R	AGCTCAGCCTTAACGAGTAC	
<i>Sea</i>	F	TTGGAACGGTAAAACGAA	121 bp
	R	GAACCTTCCCATCAAAAACA	
<i>Seb</i>	F	TCGCATCAAACCTGACAAACG	477 bp
	R	GCAGGTACTCTATAAGTGCC	
<i>Eta</i>	F	CTAGTGCATTTGTTATTCAA	119 bp
	R	TGCATTGACACCATAGTACT	
<i>Etb</i>	F	ACGGCTATATACATTCAATT	200 bp
	R	TCCATCGATAATATACCTAA	

### Keterangan:

- sea* : *staphylococcal enterotoksin A*
- seb* : *staphylococcal enterotoksin B*
- eta* : *exfoliative toxin A*
- etb* : *exfoliative toxin B*
- bp : *base pair*
- F : *forward*
- R : *reverse*

Bakteri ditanam dalam media plat agar darah selama 18-24 jam pada, suhu 37°C. Kemudian, 5-10 koloni bakteri disuspensikan dalam *buffer* TE 180 µl (10 mM Tris HCl, 1 mM EDTA pH 8), setelah itu ditambahkan 5 µl *lisostaphin* (1,8 U/µl). Selanjutnya, diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C, ditambahkan 25 µl proteinase K (14,8 mg/ml) dan 200 µl *buffer* AL (yang berisi reagen AL1 dan AL2). Suspensi bakteri diinkubasi selama dua jam pada suhu 56°C, kemudian dilakukan *vortex* supaya homogen. Suspensi dipanaskan pada suhu 95°C dalam waktu 10 menit, dan kemudian didinginkan pada suhu 4°C selama 10 menit, lalu suspensi disentrifus 6000 g selama 15 menit. Sebanyak 420 µl etanol ditambahkan ke dalam masing-masing sampel dan ditempatkan di atas tabung koleksi dan sampel dicuci dua kali dengan menggunakan 500 µl *buffer* AW. Kolom *Qiamp* kemudian disentrifus 6000 g dalam waktu 3 menit, setelah itu kolom ditempatkan di atas

tabung *ependorf* dan DNA yang ada pada kolom dilusi dengan 200  $\mu$ l *buffer* AE. Eluat dari sampel DNA disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  (Salasia *et al.*, 2004).

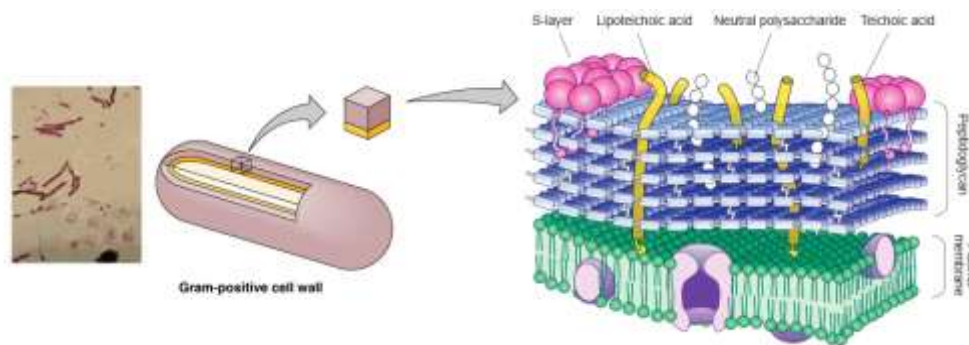
Amplifikasi gen 23S rRNA *S. aureus* dengan PCR (Coen, 2001) pada penelitian ini menggunakan mesin GeneAmp<sup>®</sup>PCR system 2400 (Perkin Elmer, USA). Proses amplifikasi dilakukan dengan kondisi sebagai berikut: denaturasi awal selama 5 menit pada suhu  $94^{\circ}\text{C}$  selanjutnya denaturasi  $94^{\circ}\text{C}$  selama 30 detik,  $50^{\circ}\text{C}$ - $60^{\circ}\text{C}$  selama 45 detik untuk penempelan primer (*annealing*),  $72^{\circ}\text{C}$  selama 1 menit untuk pemanjangan (*elongation*); amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus kemudian diakhiri 5 menit pada  $72^{\circ}\text{C}$ . DNA total hasil ekstraksi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi. Komposisi 50  $\mu$ l campuran pereaksi PCR terdiri atas 2,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 10 mM dNTP<sub>s</sub>, 100-300 ng DNA cetakan, 20-100 pmol masing-masing primer dan 2 U *Taq polymerase* beserta *buffernya*. Produk hasil PCR dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarose 1,5% dengan menggunakan *buffer* 1xTBE dalam piranti *Submarine Gel Electrophoresis* (Hoefler, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar UV ( $\lambda = 300$  nm) setelah gel diwarnai dengan *cybersave* (Invitrogen, USA). Penanda DNA dengan ukuran 100 pb digunakan sebagai petunjuk berat molekul.

Amplifikasi gen enterotoksin dan exfoliatif dari *S. aureus* dengan PCR pada penelitian ini menggunakan mesin GeneAmp<sup>®</sup>PCR system 2400 (Perkin Elmer, USA). Proses amplifikasi dilakukan dengan kondisi sebagai berikut: denaturasi awal selama 5 menit pada suhu  $94^{\circ}\text{C}$  selanjutnya diikuti dengan  $94^{\circ}\text{C}$  selama 30 detik untuk denaturasi,  $50^{\circ}\text{C}$ - $60^{\circ}\text{C}$  selama 45 detik untuk penempelan primer (*annealing*),  $72^{\circ}\text{C}$  selama 1 menit untuk pemanjangan (*elongation*); amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus kemudian diakhiri 5 menit pada  $72^{\circ}\text{C}$ . DNA total hasil ekstraksi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi. Komposisi 50  $\mu$ l campuran pereaksi PCR terdiri atas 2,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 10 mM dNTP<sub>s</sub>, 100-300 ng DNA cetakan, 20-100 pmol masing-masing primer dan 2 U *Taq polymerase* beserta *buffernya*. Produk hasil PCR dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarose 1,5% dengan menggunakan *buffer* 1xTBE dalam peranti *Submarine Gel Electrophoresis* (Hoefler, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar UV ( $\lambda = 300$  nm) setelah gel diwarnai dengan *cybersave* (Invitrogen, USA). Penanda DNA dengan ukuran 100 pb digunakan sebagai petunjuk berat molekul.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Preparasi DNA *Staphylococcus aureus*

Dalam preparasi tersebut terdapat perlakuan pemberian panas dan enzim katalitik. Hal tersebut dilakukan karena *Staphylococcus aureus* termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif yang memiliki karakteristik struktur dinding sel mengandung lapisan tebal peptidoglikan, protein, asam teikoat, asam teikuronat, dan polisakarida (Delcour *et al.*, 1999, Klien *et al.*, 1999). Tahapan berikutnya untuk menyempurnakan proses pelisisan dinding bakteri ditambahkan lisozim, karena dinding sel *S. aureus* sensitif terhadap lisozim (Laird, Baron, Gautie, 2003, Tortora, Funke, Case, 2007). Kondisi tersebut juga memungkinkan setiap unsur saling mengikat dengan ikatan kimia yang cukup kuat (Todara, 2005).



Gambar 1. Struktur dinding sel bakteri Gram positif

Sumber: Delcour *et al.*, 1999

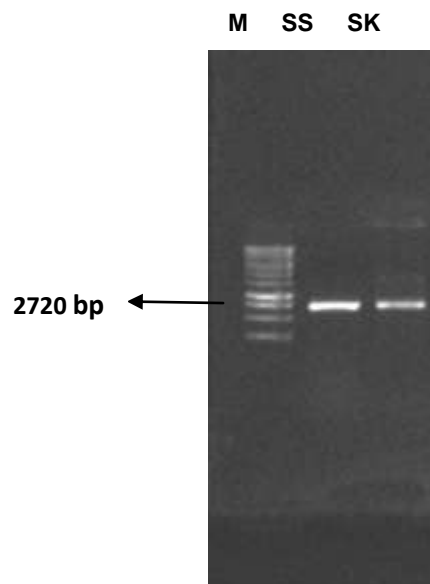
Fungsi penambahan EDTA dalam proses preparasi genom DNA bakteri dimaksudkan untuk mengikat ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$  pada dinding sel bakteri sehingga komponen polisakarida mengalami hidrolisis. Ion magnesium tersebut berfungsi untuk mempertahankan integritas sel dan aktivitas enzim nuklease yang merusak asam nukleat (Hugo & Russel, 1987). Selain itu, juga diberikan enzim proteinase K dengan tujuan untuk mendegradasi protein-protein pengotor yang terdapat pada isolat. Residu-residu pengotor (*debris*) dalam bentuk protein, oligopeptida, dan sisa-sisa dinding sel selanjutnya diekstrak dengan pelarut organik untuk membantu denaturasi dan koagulasi protein. Protein sebagian besar akan mengalami presipitasi pada interfase antara fase organik dan fase *aqueous*. Fase *aqueous* yang bening dan mengandung DNA dipindahkan ke tabung *ependorf* baru, melalui sentrifugasi dilakukan pembersihan *debris* sel sehingga diharapkan hanya tertinggal DNA. Tahap berikutnya adalah penambahan garam, etanol, dan perlakuan dingin untuk mengendapkan DNA sehingga membentuk serabut-serabut berwarna putih. Di samping itu, penambahan etanol dimaksudkan juga untuk mencuci DNA dari oligonukleotida-oligonukleotida kecil, sisa-sisa deterjen, dan sisa-sisa pelarut organik pada waktu menghilangkan protein (Sambrook & Russell, 2006).

## B. Amplifikasi gen 23S rRNA

Salah satu aktivitas molekuler yang terjadi di dalam ribosom yakni saat molekul RNA bekerja membawa informasi genetik dari DNA sampai menjadi protein. Diketahui bahwa RNA ribosom (rRNA) merupakan komponen utama penyusun ribosom (65%), di samping protein, lemak, dan ion logam tertentu. Pada organisme prokariota, ribosom terdiri atas dua subunit, yakni subunit 50S (besar) dan subunit 30S (kecil). Subunit 50S berisi 23S, 5S rRNA, dan lebih dari 30 protein, sedangkan subunit 30S rRNA terdiri atas 16S dan 20 protein. Secara umum 16S dan 23S rRNA merupakan dasar dari pohon filogenetik, sementara 5S rRNA tidak, karena dianggap tidak mengandung sekuen cukup panjang sehingga tidak dapat digunakan untuk perbandingan statistik secara signifikan.

Menurut Ludwig & Schleifer (1994), beberapa keunggulan yang dimiliki gen 23S rRNA daripada gen 16S rRNA, diantaranya karena gen 23S rRNA mengandung sekuen lebih panjang, sisipan dan atau penghapusan yang unik, dan diprediksi memiliki resolusi filogenetik lebih baik karena variasi urutannya lebih tinggi. Bahkan ditegaskan pula oleh Hunt *et al.* (2006), bahwa gen 23S rRNA juga mengandung daerah conserved untuk mendesain primer dengan derajat kesamaan hampir sama dengan primer untuk gen 16S rRNA.

Primer oligonukleotida yang digunakan pada penelitian ini merupakan primer oligonukleotida spesifik untuk amplifikasi target gen 23S rRNA. Amplifikasi gen 23S rRNA dilakukan untuk mengkonfirmasi bahwa isolat yang digunakan adalah *S. aureus*. Ke dua isolat tersebut (*S. aureus* dari susu kambing dan susu sapi) setelah dilakukan elektroforesis dan diamati menggunakan UV iluminator, nampak adanya band pada ukuran 2720 bp, hal tersebut sesuai dengan ukuran primer untuk 23S rRNA *S. aureus* yang didesain. Jadi hasil tersebut menguatkan bahwa kedua isolat adalah *S. aureus*. Hal serupa juga disampaikan oleh Pei *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa penggunaan spesifik primer untuk amplifikasi gen 23S rRNA terbukti bermanfaat untuk identifikasi spesies dari genus *Staphylococcus*. Kondisi reaksi PCR yang digunakan pada penelitian ini sesuai untuk mengamplifikasi gen 23S rRNA yang terdapat pada genom isolat *S. aureus*. Kriteria kondisi reaksi PCR yang dimaksud meliputi predenaturasi suhu 94°C, 5 menit, denaturasi 94°C, 40 detik, *annealing* 55°C, 1 menit, elongasi 72°C, 1 menit, postelongasi 72°C, 5 menit dengan siklus 35 kali siklus. Kesesuaian kondisi amplifikasi tersebut, tampak dari hasil amplifikasi gen 23S rRNA dengan dielektroforesis menggunakan 1,5% gel agarose, yang dilanjutkan dengan visualisasi pada UV transluminator. Pada Gambar 2 tampak *fragmen/band* 23S rRNA teramplifikasi sangat jelas, berpita tunggal, dan berukuran 2720 bp (sesuai dengan *database GeneBank*).

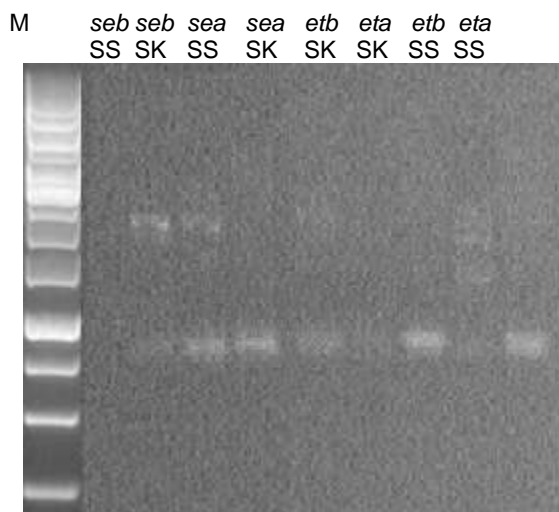


Gambar 2. Elektroforesis hasil amplifikasi gen 23S rRNA sampel *S. Aureus* menggunakan agarose 1,5% berturut-turut M (marker), SS (susu sapi) dan SK (susu kambing)

### C. Amplifikasi gen enterotoksin dan exfoliatif

Uji karakter keberadaan faktor virulensi dua isolat *S. aureus* yakni susu kambing dan susu sapi dilakukan dengan mengamplifikasi gen enterotoksin dan exfoliatif menggunakan alat PCR. Amplifikasi gen enterotoksin *S. aureus* dilakukan menggunakan primer khusus dengan program yang ditetapkan berdasarkan referensi (Salasia *et al.*, 2004). Optimasi yang dilakukan pada penelitian ini, menggunakan dua pasang primer oligonukleotida yaitu primer enterotoksin dan exfoliatif. Optimasi PCR menggunakan *mix PCR Kapa Robust* dengan konsentrasi 12,5 µl, primer *Forward* (F) dan

Reverse (R) masing-masing 1  $\mu$ l, konsentrasi DNA *template* 1  $\mu$ l dan konsentrasi ddH<sub>2</sub>O sebanyak 9,5  $\mu$ l untuk memenuhi volume akhir tiap sampel 25  $\mu$ l. Tujuan optimasi PCR untuk mendapatkan kondisi PCR yang optimal sehingga dihasilkan produk PCR yang spesifik, yaitu terbentuk pita DNA tebal dengan panjang sesuai yang diharapkan dan tidak terbentuk dimer primer, *smear*, atau *multiband*. Data sekuen isolat yang digunakan untuk merancang primer enterotoksin dan exfoliatif adalah data isolat yang diperoleh dari *GeneBank*. Primer enterotoksin (*sea* dan *seb*) dan exfoliatif (*eta* dan *etb*) didesain sendiri menggunakan program *primer3online*.



Gambar 3. Hasil elektroforesis gen enterotoksin (*sea*, *seb*) dan exfoliatif (*eta*, *etb*).  
M= Marker, SS= susu sapi, SK= susu kambing

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu 2 isolat memberikan hasil positif terhadap amplifikasi gen *sea*, *seb*, dan *eta*. Hasil positif tersebut ditandai dengan munculnya fragmen DNA dengan panjang spesifik (121 bp) untuk *sea*, 477 bp untuk *seb*, 119 bp untuk *eta*, baik pada susu sapi maupun susu kambing. Besaran panjang fragmen tersebut sesuai dengan produk PCR dari database *GeneBank* dan referensi. Menurut Omoe et al. (2002), sekitar 50% galur *S. aureus* memproduksi enterotoksin yang dapat menimbulkan keracunan makanan pada manusia (Loir, Baron, Gautier, 2003, Seo & Bohach, 2007). Exfoliatif dikenal sebagai epidermolitik toksin dan merupakan salah satu faktor virulensi dari *S. Aureus*. Selain itu juga merupakan protein serin yang memiliki spesifisitas substrat tinggi yang selektif mengenali dan menghidrolisis protein desmosomal pada lapisan permukaan kulit. Exfoliatif A dan exfoliatif B secara langsung bertanggung jawab untuk manifestasi klinis sindrom kulit terbakar staphylococcal (SSSS) (Wiley & Rogolsky, 1977). Adapun isolat yang memberikan hasil negatif (fragmen tidak muncul) adalah amplifikasi gen *etb* untuk susu sapi dan susu kambing. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pada kedua isolat *S. aureus* tidak memproduksi exfoliatif khususnya *etb*. Di Eropa, USA, dan Afrika *eta* lebih sering ditemukan, bahkan diekspresikan oleh lebih dari 80% strain *S. aureus* yang menghasilkan toksin (de Azavedo & Arbuthnott, 1981, Adesiyun, Lenz, Schaal, 1991, Cribier, Piemont, Grosshans, 1994). Hanya di negara Jepang strain *S. aureus* lebih umum menghasilkan dan mengekspresikan *etb* dibandingkan dengan *eta* (Yamasaki et al., 2005).

*S. aureus* yang dapat menghasilkan enterotoksin hanya sekitar 30%. Enterotoksin yang dilepaskan ke makanan berisiko menyebabkan keracunan makanan (*food intoxication*) pada konsumen (Forsythe & Hayes, 1998). Terdapatnya *S. aureus* dalam jumlah besar pada makanan tidak berarti bahwa enterotoksin dihasilkan. Banyak faktor yang mempengaruhi produksi enterotoksin, antara lain jenis makanan, nilai pH (enterotoksin sedikit dihasilkan pada pH di bawah 5.0), suhu (suhu optimum produksi enterotoksin 37°C, namun rentang suhu cukup lebar), keberadaan oksigen (produksi enterotoksin buruk pada kondisi anaerob) dan keberadaan mikroorganisme lain yang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* (Forsythe & Hayes, 1998).

## SIMPULAN

Berdasarkan uraian pembahasan dapat disimpulkan bahwa melalui kajian penelitian ini telah berhasil dideteksi adanya gen enterotoksin (*sea* dan *seb*) dan gen exfoliatif (*eta*) pada isolat *S. aureus* asal susu sapi perah dan susu kambing dari Desa Cijeruk, Bogor. Sementara itu, kedua isolat *S. Aureus* memberikan hasil negatif pada amplifikasi gen *etb*. Hal ini berarti isolat *S. Aureus* tidak memproduksi gen exfoliatif (*etb*).

## REFERENSI

- Adesiyun, A.A., Lenz, W., & Schaal, K.P. (1991). Exfoliative toxin production by *staphylococcus aureus* strains isolated from animals and human beings in Nigeria. *Microbiologica*, 14: 357-362.
- Balaban, N., & Rasooly, A. (2000). Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol*, 61: 1-10.
- Bergdoll, M.S., & Lee Wong, A. C. (2006). *Staphylococcal intoxications*. In: (eds.: Rieman HP, Cliver, DO) *Foodborne infections and intoxications*. California: Academic Press, Elsevier Inc., San Diego, 523–562.
- Coen, D.M. (2001). *Current protocols in molecular biology: The polymerase chain reaction*. New York. John Wiley & Sons, Inc.
- Cribier, B., Piemont, Y. & Grosshans, E. (1994). Staphylococcal scalded skin syndrome in adults. A clinical review illustrated with a new case. *J. Am. Acad. Dermatol*, 30: 319-324.
- de Azavedo, J., & Arbuthnott, J.P. (1981). Prevalence of epidermolytic toxin in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol*, 14: 341–344.
- de Freitas, M.F.L., S. Luz, I., da M. Silveira-Filho, V., Júnior, J.W.P., Stamford, T.L.M., Mota, R.A., de Sena, M.J., de Almeida, A.M.P., de Q. Balbino, V., & Leal-Balbino, T.C. (2008). Staphylococcal toxin genes in strains isolated from cows with subclinical mastitis. *Pesq. Vet. Bras*, 28(12):617-62.
- Delcour, J., Ferain, T., Deghorain, M., Palumbo, E., & Hols, P. (1999). The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76:159-184.
- Dinges, M. M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. (2000). Exotoxins of staphylococcus aureus. *Clin Microbiol Rev*, 13: 16-34.
- Forsythe, S.J., & Hayes, P.R. (1998). *Food hygiene, microbiology and HACCP*. Edisi ke-3. Maryland. Aspen Publishers, Inc.
- Gentina, Fionaliza, & Nelisna, M. (2008). *Laporan penyelidikan epidemiologi keracunan pangan di Hotel Pangeran Padang*. Padang.



- Hatakka, M., Bjorkroth, K.J., Asplud, K., Mäki-Petäys, N., & Korkeala, H.J. (2000). Genotypes and enterotoxicity of isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. *J. Food Prot*, 11: 1487-1491.
- Hugo, W.B. & Russell, A.D. (1987). Pharmaceutical Microbiology. 7<sup>th</sup> ed. In: (eds.: Denyer, SP, Hodges, NA, Gormas, SP). London. Blackwell Scientific Publication, Oxford. pp. 20-21
- Hunt, D.E., Klepac-Ceraj, V., Acinas, S.G., Gautier, C., & Bertilsson, S. (2006). Evaluation of 23S rRNA PCR primers for use in phylogenetic studies of bacterial diversity. *Appl Environ Microbiol*, 72: 2221-2225.
- Kitamoto, M., Kito, K.Y. Niimi, S., Shoda, Takamora, A., Hiramatsu, T., Akashi, T., Yokoi, Y., Hirano, H., Hosokawa, M., Yamamoto, A., Agata, N., & Hamajima, N. (2009). Food poisoning by *Staphylococcus aureus* at a university festival. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 62.
- Klien, Donald, A., Harley, J.P., & Prescott, L.M. (1999). *Microbiology. Fourth edition*. WCB. MC Grow-Hill, New York
- Loir, Y.L., Baron, F., & Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.*, 2(1):63-73.
- Ludwig, W., & Schleifer, K.H. (1994). Bacterial phylogeny based on 16S and 23S rRNA sequence analysis. *FEMS Microbiol, Rev* 15: 155–173.
- Omoë, K., Ishikawa, M., Shimoda, Y., Hu, D.L., Ueda, & Shinagawa, K. (2002). Detection of Seg, Seh and Sei Genes in Isolates and Determination of Enterotoxin Productivities of *Staphylococcus aureus* Isolates Harboring Seg, Seh and Sei Genes. *J. Clin. Microbiol.* 40: 857-862.
- Pei, A.W, Carlos, N.W., Pooja, C., Martin, J.B., Liying, Y., David, M.R., & Zhiheng, P. (2009). *Diversity of 23S rRNA genes within individual prokaryotic genomes*, vol. 4(5) e5437. PLoS ONE | [www.plosone.org](http://www.plosone.org).
- Prasetyo, B., & Kusumaningrum, E.N. (2014). Deteksi gen *tst* isolat *Staphylococcus aureus* melalui amplifikasi 23S rRNA asal susu kambing dan sapi perah. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 8(1): 76-79.
- Salasia, S.I., Khusnan, O., Lammler, C., & Zshock, M. (2004). Comparative studies on pheno- and genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in Central Java, Indonesia and Hesse, Germany. *J Vet Res Sci* 5(2):103-109.
- Sambrook, J. & Russell, D.W. (2006). *The condensed protocols from molecular cloning: A laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbour Laboratory Press.
- Seo, K. S., & Bohach, G. A. (2007). *Staphylococcus aureus*. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, Ed: M. P. Doyle and L. R. Beuchat. ASM Press: Washington, DC, USA. 493-518.
- Smyth, D.S., Kennedy, J., Twohig, J., Miajlovic, H., Bolton, D.J., & Smyth, C.J. (2006). *Staphylococcus aureus* isolates from Irish domestic refrigerators possess novel enterotoxin and enterotoxin-like genes and are clonal in nature. *Journal of food protection*, 69(3): 508-515.
- Suwito, W. (2010). Bakteri yang sering mencemari susu: Deteksi, pathogenesis, epidemiologi dan cara pengendaliannya. *J. Litbang Pertanian* 29(3).
- Todar, K. (2005). *Staphylococcus*. University of wisconsinmadison departement of bacteriology, USA. pp. 330.
- Tortora, G.J., Funke, B.R., & Case, C.L. (2007). *Microbiology: An introduction*. 9<sup>th</sup> ed. San Francisco. Pearson Benjamin Cummings.

- Tseng, C.W., Zhang, S., & Stewart, G.C. (2004). Accessory gene regulator control of staphylococcal enterotoxin d gene expression. *J Bacteriology*, 186:1793-1801.
- Wiley, B.B., & Rogolsky, M. (1977). Molecular and serological differentiation of staphylococcal exfoliative toxin synthesized under chromosomal and plasma control. *Indon-imun*, 18:487-494.
- Yamasaki, O., Yamaguchi, T., Sugai, M., Chapuis-Cellier, C., Arnaud, F., Vandenesch, F., Etienne, J., & Lina, G. (2005). Clinical manifestations of staphylococcal scalded-skin syndrome depend on serotypes of exfoliative toxins. *J. Clin. Microbiol*, 43: 1890-1893.
- Yarwood, J. M., McCormick, J.K., Paustian, M.L., Orwin, P.M., Kapur, V., & Schlievert, P.M. (2002). Characterization and expression analysis of *staphylococcus aureus* pathogenicity island 3. *J Biol Chem*, 277: 13147-13188.

## INDEKS JURNAL MATEMATIKA, SAINS, & TEKNOLOGI TAHUN 2015

Air, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 43, 64, 67  
air limbah cucian beras, 93, 94, 95, 98, 99  
amino acid, 71  
Arboretum, 44, 45, 46, 47, 50, 51  
asam amino, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77  
asam lemak, 71, 72, 73, 75, 76, 77  
Batang, 10, 14  
Bengawan solo, 18  
bersih, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 29, 63, 64, 66, 68, 98  
cat, 51, 60, 61, 62, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70  
clean, 18, 70  
Croton, 10, 11  
daun, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 35, 36, 37, 41, 42, 47, 48, 49, 84, 94, 98  
Dipole Mode Index, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58  
enterotoxin gene, 100  
exfoliative gene, 100  
farmers behavior, 79  
fatty acid, 71  
fertilizer rabbit urine, 1  
gen enterotoksin, 100, 101, 102, 103, 105, 106, 107  
gen exfoliatif, 100, 107  
Growth and development, 35  
hidroponik sistem wick, 1, 2, 3  
holothuria scabra, 71  
inoculant, 93  
inokulan, 93, 94, 95, 98  
jaringan komunikasi, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 90, 91, 92  
keberlanjutan, 30, 60, 62  
kekayaan jenis tanaman, 44, 45, 47  
Kemitraan, 27  
lead (Pb), 10  
leaf cuttings, 35  
leaves, 1, 10  
limbah, 19, 23, 24, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 93, 94, 95, 98  
linear regression, 52  
network communications, 79  
Networking, 26  
Nino 3.4, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58  
organic fertilizer, 1, 93  
paint, 60, 70  
pakcoy plants, 1

Participatory, 26, 34  
partisipatif, 26, 27, 28, 30, 34  
pendar sinar-X, 10  
pengolah ikan asap, 26, 27, 28, 29, 32, 34  
peranan karyawan, 60, 69  
Pertumbuhan dan perkembangan, 35  
petani sayuran, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92  
pucuk, 10, 12, 13, 15, 16  
pupuk organik, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 47, 48, 93, 94, 96, 97, 98, 99  
pupuk urin kelinci, 1, 9  
Puring, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17  
regresi linier, 52, 54, 55  
river, 18, 24  
S. trifasciata, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43  
shoots, 10, 35  
Smoked Fish Processing, 26  
species richness, 44  
staphylococcus aureus, 100, 107, 109  
stek, 35, 36, 37, 38, 41, 42  
stems, 10  
sumur, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25  
sungai, 18, 19, 25  
sustainability, 60  
susu kambing, 100, 101, 102, 105, 106, 107, 108  
susu sapi perah, 100, 101, 102, 107  
tanaman pakcoy, 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8  
the role of employee, 60  
timbang (Pb), 10, 11, 12, 13, 17  
vegetable farmer, 79  
waste, 24, 60, 70, 93  
waste water of rice, 93  
water, 18, 70, 93  
wells, 18  
wick system hydroponic, 1  
X-Ray Fluorescence, 10

## INDEKS PENULIS JURNAL MATEMATIKA, SAINS, & TEKNOLOGI TAHUN 2015

Beti Cahyaning Astuti, 19  
Budi Prasetyo, 106  
Bulkis, 84  
Elfarisna, 98, 100, 104  
Lilian Sarah Hiariey, 27  
Ludivica Endang Setijorini, 10  
Nesti Rostini Romeon, 27  
Rita Tri Puspitasari, 98  
Rosdiana, 1  
Sherly Ridhowati, 76  
Slamet Supriyadi, 56  
Sofiyah Al-Widad, 98  
Sri Kurniati Handayani, 47  
Sri Listyarini, 64  
Sri Wrinarti, 64  
Susi Sulistiana, 10  
Tri Edhi Budhi Soesilo, 64  
Whika Febria Dewatisari, 37  
Yati Suryati, 98

## **INDEKS PENYUNTING JURNAL MATEMATIKA, SAINS, & TEKNOLOGI TAHUN 2015**

Untuk penerbitan Volume 16 Tahun 2015, semua naskah yang diserahkan kepada Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi (JMST) telah ditelaah oleh Penyunting Ahli berikut:

### **Penyunting Ahli**

Mohamad Agus Setiadi (Institut Pertanian Bogor)  
Winarso D. Widodo (Institut Pertanian Bogor)  
Benny Suprpto (Institut Teknologi Bandung)  
Sonny Suwasono (Universitas Jember)  
Djati Kerami (Universitas Indonesia)  
Etty Riani (Institut Pertanian Bogor)  
Jarnuzi Gunlazuardi (Universitas Indonesia)

### **Penyunting Pelaksana**

Herman (Universitas Terbuka)  
Jan Hotman (Universitas Terbuka)  
Sri Listyarini (Universitas Terbuka)  
Lina Warlina (Universitas Terbuka)  
Ariyanti Hartari (Universitas Terbuka)  
Diarsi Eka Yani (Universitas Terbuka)  
Sitta Alief Farihati (Universitas Terbuka)

Penyunting Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi (JMST) menyampaikan penghargaan setinggi-tingginya dan terima kasih sebesar-besarnya kepada para Penyunting Ahli tersebut atas bantuan mereka.