

HUBUNGAN *CLONAL METHICILLIN RESISTANT Staphylococcus aureus* (MRSA) PADA SAPI DAN MANUSIA

Clonal Association of Methicillin Resistance Staphylococcus aureus (MRSA) Among Bovine and Human

Siti Isrina Oktavia Salasia¹, Syarifuddin Tato², Feny Prabawati¹, dan Dwi Ariyanti¹

¹Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

E-mail: isrinasalasia@ugm.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menentukan hubungan *clonal methicillin resistance Staphylococcus aureus* (MRSA) antara isolat sapi dan manusia. *Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari infeksi kulit manusia di Yogyakarta (10 isolat) dan dari susu sapi perah (11 isolat) yang berasal dari Yogyakarta, Solo, dan Boyolali. Identifikasi bakteri dan uji resistensi *S. aureus* terhadap *methicillin* telah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Hubungan genetika *S. aureus* antar isolat sapi dan manusia ditentukan menggunakan teknik *single enzyme amplified fragment length polymorphism* (AFLP). Hasil penelitian diketahui bahwa berdasar analisis AFLP *S. aureus* memperlihatkan 15 pola genetika (A sampai O) dan dapat dikelompokkan ke dalam 7 klas (I sampai VII). *Staphylococcus aureus* isolat asal sapi dari daerah yang berdekatan (Boyolali dan Solo), dapat dikelompokkan dalam 1 klas (kecuali 1 isolat sapi dari Yogyakarta), isolat sapi dan manusia dari Yogyakarta dapat dikelompokkan dalam beberapa klas. Masing-masing klas terdapat isolat *S. aureus* yang telah resisten terhadap MRSA. Hubungan genotipe *S. aureus* dalam penelitian ini dapat digunakan untuk mengetahui distribusi *clonal* antara isolat sapi dan manusia dan dapat digunakan sebagai kontrol adanya infeksi MRSA di Indonesia.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, resisten, metisilin, AFLP

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the clonal association among bovine and human isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* strains used in this study were isolated from human skin infections in Yogyakarta (10 isolates) and from bovine milk (10 isolates) originated from Yogyakarta, Solo, and Boyolali. Bacterial identification and the resistance of *S. aureus* to methicillin have been examined previously. Determination of the genetic relationships between *Staphylococcus aureus* isolated from bovine and human were carried out using single enzyme amplified fragment length polymorphism (AFLP) technique. The results showed that a single enzyme AFLP analysis revealed 15 patterns named A to O and could be clustered into 7 clusters (I to VII). *Staphylococcus aureus* isolated from bovine which location is close to each other in Boyolali and Solo, grouped in one cluster (except 1 bovine isolate from Yogyakarta), bovine and human isolates in Yogyakarta grouped into several clusters. *S. aureus* isolates that were resistance to MRSA was observed in each cluster. The genotypic results of the present study might help to have better understanding the distribution of prevalent *S. aureus* clones among human and bovine isolates and might help to control MRSA infections in Indonesia.

Key words: *Staphylococcus aureus*, resistant, methicillin, AFLP

PENDAHULUAN

Peningkatan produksi susu yang sehat dan berkualitas merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan pendapatan masyarakat khususnya peternak sapi perah, sekaligus sebagai upaya untuk meningkatkan kesehatan masyarakat melalui konsumsi susu yang sehat. Untuk mewujudkan hal tersebut maka kesehatan sapi perah termasuk lingkungannya harus mendapatkan perhatian khusus. Mastitis atau radang ambing sering menyerang sapi-sapi perah baik milik perusahaan maupun sapi perah milik peternak kecil yang banyak menimbulkan kerugian. Kejadian mastitis pada sapi perah di Indonesia sangat tinggi yaitu mencapai 85%, dan kejadian ini sebagian besar merupakan infeksi subklinis sehingga tidak cepat dilakukan penanganan ataupun pengendalian. Akibat dari kejadian mastitis ini dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar terutama karena turunnya produksi susu yang dapat mencapai 25% dari total produksi.

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan bakteri patogen penting yang menyebabkan mastitis pada ruminansia (Takeuchi *et al.*, 2001). Organisme

ini merupakan agen utama penyebab mastitis baik subklinis atau kronis pada sapi perah yang menyebabkan kerugian yang tidak sedikit pada industri susu (Hayakawa *et al.*, 2001). Mastitis yang disebabkan oleh *S. aureus* terlihat gejalanya berupa radang subakut atau kronis. Susu merupakan media yang baik untuk tumbuh-kembangnya bakteri ini. Kontaminasi *S. aureus* dapat terjadi karena adanya bakteri ini dalam susu segar, selama pemerahan atau pengolahan. Reservoir utama *S. aureus* terdapat dalam kuartir yang terinfeksi (Akineden *et al.*, 2001).

Infeksi *S. aureus* pada manusia terutama *methicillin resistant S. aureus* (MRSA) merupakan infeksi yang sulit untuk diatasi karena kuman ini diketahui telah resisten terhadap berbagai antibiotik. Infeksi *staphylococcal* antara lain akibat luka-luka pasca operasi, pencemaran pada saat hemodialisis, bakteremia, dan pneumonia (Na'was *et al.*, 1998). Potensi *S. aureus* dalam menimbulkan berbagai penyakit dan keracunan pangan sangat besar baik pada hewan maupun pada manusia.

Permasalahan utama dalam mengatasi infeksi *S. aureus* adalah masalah resistensi antibiotik. Beberapa

strain S. aureus saat ini dilaporkan telah resisten terhadap hampir semua antibiotik (Todar, 2002). Di beberapa rumah sakit dilaporkan terjadi peningkatan frekuensi MRSA dan biasanya *strain* MRSA ini resisten terhadap multipel antibiotik (Na'was *et al.*, 1998; Todar, 2002).

Strategi pengendalian infeksi *S. aureus* di berbagai negara ditentukan berdasar karakter kuman, eksistensi kuman setelah mengalami seleksi terhadap tekanan yang berat dari berbagai antibiotik, kondisi geografis tempat kuman berkembang atau beradaptasi terhadap lingkungan, dan faktor-faktor lain. Faktor-faktor tersebut mengakibatkan populasi *S. aureus* menjadi sulit dikenali hubungan filogenetiknya sehingga sulit untuk dikendalikan, karena tidak bisa diidentifikasi secara jelas. Akhir-akhir ini strategi pengendalian *S. aureus* dikembangkan berdasar karakter klas patogennya yang berbeda-beda antar negara. Oleh karena itu dalam penelitian ini ingin diketahui keberadaan *S. aureus* yang telah resisten terhadap MRSA di antara klon *S. aureus* isolat sapi dan manusia. Diharapkan pola hubungan genotipe *S. aureus* dalam penelitian ini dapat digunakan untuk mengetahui distribusi klon antara isolat sapi dan manusia dan dapat digunakan sebagai kontrol adanya infeksi MRSA di Indonesia.

MATERI DAN METODE

Isolat *S. aureus*

Isolat *S. aureus* yang berasal dari susu sapi perah dari berbagai sentra peternakan sapi perah di Yogyakarta, Solo, dan Boyolali dan kulit manusia yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, diidentifikasi dan ditentukan terhadap metisilin pada penelitian sebelumnya (Tato *et al.*, 2011).

Ekstraksi DNA dan Identifikasi *mecA S. aureus*

Deoxyribonucleic acid (DNA) *S. aureus* diekstraksi dengan menggunakan *Qiamp tissue kit* (Qiagen, Hilden, Jerman) sesuai prosedur yang telah ditentukan oleh pabrik. Setelah bakteri ditanam pada plat agar darah selama 24 jam pada suhu 37° C, 5-10 koloni bakteri disuspensikan dalam bufer TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8, yang mengandung 5 µl *lysostaphin* (1,8 U/µl; Sigma). Setelah inkubasi selama 30 menit pada suhu 37° C, ditambahkan 25 µl of proteinase K (14,8 mg/ml; Sigma) dan 200 µl of bufer AL (yang berisi reagen AL1 and AL2). Suspensi bakteri diinkubasi selama 3 menit pada suhu 70° C dan selama 10 menit pada suhu 95° C, kemudian setelah disentrifus beberapa detik, sebanyak 420 µl etanol ditambahkan ke dalam masing-masing sampel dan ditempatkan ke dalam kolom *QIAamp*. Setelah disentrifugasi selama 1 menit kolom *QIAamp* ditempatkan di atas tabung koleksi dan sampel dicuci dua kali dengan 500 µl of bufer AW (Qiagen). Kolom *QIAamp* kemudian disentrifus selama 3 menit, kolom kemudian ditempatkan di atas 2 ml tabung Eppendorf

dan DNA yang ada pada kolom dicuci dua kali dengan cara elusi dengan 200 µl bufer AE. Hasil elusi sampel DNA dapat disimpan pada suhu -20° C (Salasia *et al.*, 2004).

Amplifikasi gen penyandi *methicillin resistance (mecA)*, dengan menggunakan primer spesifik 5'-AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C-3' dan 5'-AGT TGT GCA GTA CCG GAT TTG C-3' (Al-Ruaily dan Khalil, 2011). Campuran untuk *polymerase chain reaction* (PCR) sebanyak 25 µl terdiri atas 2 µl primer 1 (10 pmol), 2 µl primer 2 (10 pmol), 14 µl PCR *mix*, 2 µl DNA dan 5 µl aquades steril, disentrifus beberapa detik, dan dimasukkan dalam *thermal cycler* dengan program PCR 30 × (95° C 60 s, 53° C 30 s, 72° C 45 s), dengan mengacu referensi (Al-Ruaily dan Khalil, 2011). Hasil amplifikasi dianalisis dengan menggunakan elektroforesis dengan 2% agarose (Seakem) dan *Syber safe* (Invitrogen), kemudian divisualisasi dengan UV *transluminator*, dibandingkan dengan kontrol dan *marker* 1 kb DNA *ladder* (Invitrogen).

Analisis *Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) S. aureus*

Ekstrak DNA sebanyak 5 µl dilakukan *digesti* selama 16 jam pada suhu 37° C dengan 10 U *HindIII* dan 5 mM *spermidine trihydrochloride* hingga volume akhir 20 µl. Ekstrak DNA kemudian ditambah dengan 0,2 µg *adapter* oligonukleotida (ADH-1 ACG GTA TGC GAC AG dan ADH-2 AGC TCT GTC GCA TAC CGT GAG) dan 1 U T4 DNA ligase sampai dengan volume akhir 20 µl dan diinkubasi pada temperatur kamar (sekitar 20° C) selama 4 jam. Hasil *ligasi* DNA dipanaskan pada suhu 80° C selama 10 menit, kemudian dilarutkan dalam akuades steril (1:5).

Reaksi amplifikasi PCR digunakan total volume 25 µl yang berisi 2,5 µl *template* DNA, 12,5 µl PCR *mix*, 9 µl dH₂O, 1 µl primer HI-X (GGT ATG CGA CAG AGC TTX) (X= A, T, G, atau C) (100 p mol/ µl) dalam 1 x PCR bufer sesuai dengan petunjuk pabrik. Masing-masing HI-X primer (derivatif) digunakan dalam 4 reaksi PCR secara terpisah. Amplifikasi PCR digunakan *thermal cycler*, setelah denaturasi awal 4 menit pada temperatur 94° C, fragmen gen target diamplifikasi dalam 33 siklus. Masing-masing siklus dengan program denaturasi selama 1 menit pada suhu 94° C, penganealan 1 menit pada suhu 60° C dan ekstensi selama 2,5 menit pada suhu 72° C. Produk PCR kemudian dipisahkan dengan gel elektroforesis 1,5 % w/v agarose (Seakem), gel dilakukan *running* dalam 0,5xTBE. *Marker* yang digunakan adalah 100 kb DNA *ladder* (Invitrogen). Hasil *band* divisualisasikan dengan *Syber safe* (Invitrogen) dengan bantuan UV trans-iluminator.

Pola AFLP dianalisis menggunakan *BioNumerics software* (ver. 6.01; Applied Maths, Belgium). Dendogram disusun berdasar *unweight pair group average method* (UPGMA) menggunakan *dice coefficient* (Boerema *et al.*, 2005).

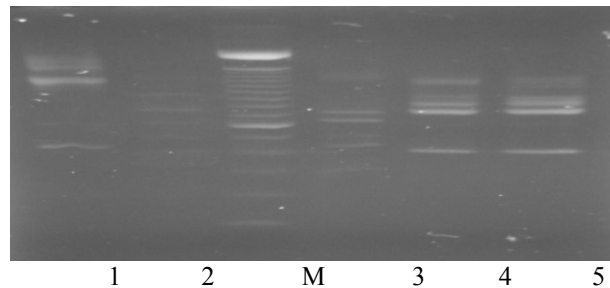
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian sebelumnya berdasar uji sensitivitas terhadap metisilin, diketahui bahwa kejadian infeksi MRSA cukup besar yaitu pada manusia (20%), bahkan pada sapi perah lebih tinggi dari kejadian pada manusia (36,4%) (Tato *et al.*, 2011). Berdasarkan analisis keberadaan gen yang bertanggung jawab terhadap metisilin, diketahui bahwa dari 21 isolat *S. aureus* terdapat 9 (42,9%) isolat mengandung gen *mecA* dan 12 isolat (57,1%) negatif (Tato *et al.*, 2013). Terdapatnya MRSA pada manusia dan ternak (sapi perah) mengindikasikan adanya penularan infeksi antara manusia dengan ternak. Adanya infeksi MRSA ini perlu diwaspadai karena *S. aureus* akan cenderung resisten terhadap berbagai macam antibiotik yang lain, sehingga infeksi *S. aureus* akan lebih sulit untuk dikendalikan.

Staphylococcus aureus isolat asal sapi perah dan manusia setelah dilakukan uji resistensi terhadap metisilin, dilakukan analisis AFLP untuk melihat hubungan genetika antar isolat. Hasil analisis AFLP *S. aureus* isolat sapi perah dan manusia disajikan Tabel 1. Teknik AFLP digunakan dalam penelitian ini karena teknik ini dapat digunakan untuk melihat pola hubungan genetika antar isolat *S. aureus* yang didasari pada prinsip analisis *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) dan amplifikasi PCR yang relatif lebih cepat untuk *molecular typing* (Boerema *et al.*, 2005). Dalam penelitian ini teknik AFLP digunakan *single enzyme* yang dapat menghasilkan *band-band* yang lebih sedikit tapi dapat diperoleh resolusi yang cukup baik. Penggunaan *single enzyme* pada AFLP telah banyak dilakukan karena lebih sederhana dengan hasil yang cukup baik (Boerema *et al.*, 2005).

Hasil analisis AFLP pada elektroforesis memperlihatkan 5-12 pita (Gambar 1) dengan membentuk pola AFLP sebanyak 15 tipe (A sampai O) (Tabel 1). Berdasar analisis dendrogram dengan menggunakan *cut off value* 0.25 semua *S. aureus* dapat dikelompokkan menjadi 7 klas (I, II, III, IV, V, VI, dan VII). Tipe A, B, dan C,

mengelompok dalam klas I, terdiri atas *S. aureus* isolat asal susu sapi Boyolali (BY5 dan BY 6), susu sapi Solo (SU34, SU39) susu sapi Yogyakarta (SU25) dan isolat asal manusia Yogyakarta (179, 198). Dalam klas I terdapat 1 isolat susu sapi Yogyakarta (SU25) MRSA. Tipe D dan E termasuk dalam klas II adalah *S. aureus* yang berasal dari manusia di Yogyakarta (179, 198, 255), semua isolat termasuk MRSA. Tipe F dan G termasuk dalam klas III, terdiri atas *S. aureus* isolat susu sapi Yogyakarta (SU 28) dan isolat manusia Yogyakarta (169) yang termasuk *strain* MRSA. Tipe I termasuk dalam klas IV terdiri dari *S. aureus* isolat asal susu sapi Yogyakarta (Y7) dan SU2 yang termasuk *strain* MRSA. Tipe J, K, dan L termasuk dalam klas V, terdiri atas *S. aureus* isolat asal susu sapi Yogyakarta (SU16, SU24/MRSA, SU10) dan isolat manusia Yogyakarta (870). Tipe M dan N termasuk dalam klas VI, merupakan *S. aureus* asal manusia Yogyakarta (199/MRSA) dan 262. Tipe O termasuk dalam klas VII, merupakan *S. aureus* asal manusia Yogyakarta (1091/MRSA dan 262). Dari semua klas, pada masing-masing klas terdapat *S. aureus* yang telah resisten terhadap metisilin. Keberadaan MRSA dalam masing-masing klas, dimungkinkan berpotensi terjadi penyebaran dan peningkatan frekuensi infeksi MRSA, yang akan menyulitkan dalam pengendalian infeksi.



Gambar 1. Analisis *amplified fragment length polymorphism* (AFLP) *Staphylococcus aureus* isolat susu sapi perah (1: S2, 2: S5, 3: S10, 4: S16, 5: S24. M = marker DNA)

Tabel 1. Klas *S. aureus* isolat asal susu sapi perah dan manusia berdasarkan AFLP

No	Kode	Asal Isolat	Pola AFLP	Klas	Gen <i>mecA</i>	Kemiripan (%)	<i>Cophenetic correlation</i>
1.	BY5	Susu sapi, Boyolali	A	I	-	32	80
2.	BY7	Susu sapi, Boyolali	A	I	-	32	80
3.	SU34	Susu sapi, Solo	B	I	-	27	82
4.	SU39	Susu sapi, Solo	B	I	-	27	82
5.	SU25	Susu sapi, Yogyakarta	C	I	+	27	82
6.	179	Manusia, Yogyakarta	D	II	+	25	93
7.	198	Manusia, Yogyakarta	D	II	+	25	93
8.	255	Manusia, Yogyakarta	E	II	+	24	89
9.	SU28	Susu sapi, Yogyakarta	F	III	-	22	68
10.	169	Manusia, Yogyakarta	G	III	+	25	93
11.	274	Manusia, Yogyakarta	H	IV	-	23	87
12.	SU2	Susu sapi, Yogyakarta	I	IV	+	22	68
13.	Y7	Susu sapi, Yogyakarta	I	IV	-	32	80
14.	SU16	Susu sapi, Yogyakarta	J	V	-	27	82
15.	SU24	Susu sapi, Yogyakarta	J	V	+	27	82
16.	870	Manusia, Yogyakarta	K	V	-	24	89
17.	SU10	Susu sapi, Yogyakarta	L	V	-	27	82
18.	199	Manusia, Yogyakarta	M	VI	+	23	87
19.	262	Manusia, Yogyakarta	N	VI	-	7	100
20.	1091	Manusia, Yogyakarta	O	VII	+	7	100
21.	979	Manusia, Yogyakarta	O	VII	-	23	87

Dari hasil analisis AFLP, menunjukkan tingginya tingkat keragaman genetika antar isolat *S. aureus*. Griffith *et al.* (1996) menyatakan bahwa secara umum keragaman genetika pada suatu populasi dapat terjadi karena gen mengalami mutasi, rekombinasi, dan perpindahan sekelompok populasi dari suatu tempat ke tempat lain. Dalam penelitian, berdasar pola genetika antar sumber isolat dan wilayah isolat kemungkinan dipengaruhi oleh pergerakan sapi maupun produk susu sapi dari suatu daerah ke daerah lain. Kedekatan isolat asal sapi perah dengan manusia kemungkinan dapat terjadi melalui kontaminasi antara manusia yang dapat menularkan infeksi melalui lesi kulit ditangan tangan saat pemerahan maupun melalui leleran hidung (Sandel dan McKillip, 2004).

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat *S. aureus* yang berasal dari wilayah yang berdekatan mengelompok menjadi satu kelompok, menunjukkan adanya kemiripan genetika. *Staphylococcus aureus* asal susu sapi perah di Boyolali (BY5, BY7), terdapat dalam satu klas dengan susu sapi perah asal Surakarta (SU34, SU39), diketahui bahwa Kabupaten Boyolali merupakan wilayah yang berdekatan dengan Kabupaten Surakarta. Dalam penelitian ini terdapat 1 isolat susu sapi perah (SU25) yang berasal dari wilayah Yogyakarta termasuk dalam klas ini. Hal ini kemungkinan adanya perpindahan atau penjualan sapi perah antar wilayah. Isolat asal Yogyakarta ini (SU25) diketahui telah resisten terhadap metisilin (positif mengandung gen *mecA*), oleh karena itu perlu diwaspadai karena isolat ini mempunyai potensi menular pada sapi perah di wilayah Boyolali dan Solo yang diketahui tidak mengandung gen *mecA* (belum resisten metisilin). Yusniastuti *et al.* (2005) menyatakan bahwa tingginya tingkat kemiripan genetika menunjukkan bahwa kekerabatan antar klon sangat dekat, perubahan pita DNA pada genotipe dalam satu klon yang sama dan antar klon yang berbeda juga sangat dekat.

Dalam klas II, VI, dan VII mengelompok *S. aureus* isolat asal manusia yang semuanya berasal dari wilayah Yogyakarta, masing-masing klas tersebut terdapat isolat MRSA sedangkan klas III, IV, dan V terdiri atas campuran antara isolat sapi perah dan manusia yang berasal dari satu wilayah Yogyakarta, masing-masing klas ini juga terdapat MRSA. Adanya MRSA dalam masing-masing klas menunjukkan adanya potensi penyebaran MRSA ke berbagai wilayah di Yogyakarta maupun Jawa Tengah (Boyolali dan Surakarta). Gambaran pola AFLP dan MRSA ini kemungkinan mengindikasikan adanya hubungan kekerabatan antar isolat yang kemungkinan terjadi sebagai akibat pergerakan/perpindahan lalu lintas ternak maupun populasi antar wilayah di Indonesia. Pola penyebaran MRSA ini perlu diwaspadai sebagai pedoman pengendalian infeksi MRSA di Indonesia.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat *S. aureus* yang berasal dari wilayah yang berdekatan (Solo dan Boyolali) mengelompok menjadi satu kelompok (klas

I). Dalam klas I terdapat 1 isolat sapi yang berasal dari Yogyakarta yang diketahui MRSA. Dalam klas II, VI, dan VII mengelompok *S. aureus* isolat asal manusia yang semuanya berasal dari wilayah Yogyakarta, masing-masing klas tersebut terdapat isolat MRSA sedangkan klas III, IV, dan V terdiri atas campuran antara isolat sapi perah dan manusia yang berasal dari satu wilayah Yogyakarta, masing-masing klas ini juga terdapat MRSA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian hasil penelitian yang dibiayai oleh Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan melalui Hibah Kompetensi tahun 2008-2010. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Akineden, Ö., C. Annemüller, A.A. Hassan, Ch. Lämmler, W. Wolter, and M. Zschöck. 2001. Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 8:959-964.
- Al-Ruaily, M.A. and O.M. Khalil. 2011. Detection of (*mecA*) gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at Prince A/Rhman Sidery Hospital, Al-Jouf, Saudi Arabia. *J. Med. Gen. Genom.* 3 (3):41-45.
- Boerema, J.A., R. Clemens, and G. Brightwell. 2005. Evaluation of molecular methods to determine enterotoxigenic status and molecular genotype of bovine, ovine, human and food isolates of *Staphylococcus aureus*. *J. Food Microbiol.* 107:192-201.
- Griffith, A.J.F., J.H. Miller, D.T. Suzuki, R.C. Lewontin, and W.M. Gelbart. 1996. *An Introduction to Genetic Analysis*. W. H. Freeman and Co., New York.
- Hayakawa, Y., N. Hashimoto, K. Imaizumi, T. Khaido, and S. Takeuchi. 2001. Genetic analysis of exfoliative toxin A-producing *Staphylococcus aureus* isolated from mastitis cows milk. *Vet. Microbiol.* 78(1):39-48.
- Na'was, T., A. Hawwari, E. Hendrix, J. Hebden, R. Edelman, M. Martin, W. Campbell, R. Naso, R. Schwalbe, and A.I. Fattom, 1998. Phenotypic and genotypic characterization of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates from trauma patients. *J. Clin. Microbiol.* 36 (2):414-420.
- Salasia, S.I.O., Z. Khusnan, C. Lämmler, and M. Zschöck. 2004. Comparative studies on phenol and genotypic properties of *Staphylococcus aureus*, isolated from bovine subclinical mastitis in Central Java in Indonesia and Hesse in Germany. *J. Vet. Sci.* 5(2):103-109.
- Sandel, M.K. and J.L. McKillip. 2004. Virulence and recovery of *Staphylococcus aureus* relevant to the food industry using improvements on traditional approaches. *Food Control* 15:5-10.
- Takeuchi, S., T. Maeda, N. Hashimoto, K. Imaizumi, T. Kaidoh, and Y. Hayakawa. 2001. Variation of the *agr* locus in *Staphylococcus aureus* isolates from cows with mastitis. *Vet. Microbiol.* 79(3):267-274.
- Tato, S., S.I.O. Salasia, I. Sudarmanto, V. Waranurastuti, dan Kurniasih. 2011. Resistensi *Staphylococcus aureus* isolat asal manusia dan sapi perah terhadap berbagai antibiotika. *J. Sain Vet.* 29(2):23-27.
- Tato, S., S.I.O. Salasia, dan Kurniasih. 2013. *Methicilin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) isolat asal manusia dan sapi perah di wilayah Jawa Tengah. *J. Vet.* (in press).
- Todar, K. 2002. *Staphylococcus*. *Bacteriology at UW-Bacteriology 330 Home Page*.
- Yusniastuti, E., R. Setiamihardja, M.H. Karmana, and N. Toruan-Mathius. 2005. Analisis AFLP pada abnormalitas klon-klon kelapa sawit (*Elaeis guineensis Jacq.*) hasil kultur jaringan yang berbuah normal dan abnormal. *Agrosains* 7(1):7-12.