

## IDENTIFIKASI BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA PREPUTIUM DAN VAGINA KUDA (*Equus caballus*)

### *Identification of Staphylococcus aureus in Preputium and Vagina of Horses (Equus caballus)*

Yulina Rahmi<sup>1</sup>, Darmawi<sup>2</sup>, Mahdi Abrar<sup>2</sup>, Faisal Jamin<sup>2</sup>, Fakhurrrazi<sup>2</sup>, dan Yudha Fahrimal<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>3</sup>Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: rahmi.yulina@yahoo.co.id

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) pada preputium dan vagina kuda. Sebanyak lima *swab* preputium dan lima *swab* vagina dikoleksi dari 10 ekor kuda umur 3-9 tahun yang berasal dari Desa Belang Bebangka, Gelelungi, Reloop, dan Kelapeng Kecamatan Pegasing Kabupaten Aceh Tengah. *Swab* preputium dan vagina kuda dicelupkan ke dalam tabung reaksi yang berisi *nutrient broth* (NB). *Staphylococcus aureus* diidentifikasi pada media *manitol salt agar* (MSA). Koloni terpisah yang berwarna kuning cerah pada media tersebut diuji pewarnaan Gram, hemolisis, katalase, dan uji gula-gula (manitol dan glukosa). Hasil menunjukkan bahwa isolat yang tumbuh pada MSA adalah koloni berwarna kuning cerah, bersifat Gram positif,  $\beta$ -hemolisis, dan katalase positif. Isolat tersebut memfermentasi manitol dan glukosa. Isolat yang diidentifikasi dari preputium dan vagina kuda menunjukkan karakter dari *S. aureus*. Disimpulkan bahwa bakteri *S. aureus* positif teridentifikasi di semua *swab* sampel pada preputium dan vagina kuda.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, kuda, preputium, vagina

#### ABSTRACT

*This research aims to identify the Staphylococcus aureus (S. aureus) bacteria from preputium and vagina of horses. Five swabs preputium and 5 swabs vagina samples from 3-9 years olds horse in the village of Bebangka, Gelelungi, Reloop, and Kelapeng, Pegasing Aceh Tengah District were used in this study. Preputium and vagina swabs of horses were dipped into reaction tube containing Nutrient Broth (NB). Staphylococcus aureus was identified on manitol salt agar (MSA). Separated colony colored bright yellow on the media were tested for Gram staining, hemolysis, catalase, and sugar test (glucose and manitol). The result showed that the isolates growth on MSA were colored bright yellow, Gram positive,  $\beta$  hemolysis, and catalase positive. The isolates fermented manitol and glucose. Isolates identified from horses preputium and vagina showed the characteristic of S. aureus. In conclusion S. aureus bacteria were positively identified from all of swabs samples, both in preputium and vagina of horses.*

Key words: *Staphylococcus aureus*, horse, preputium, vagina

#### PENDAHULUAN

Populasi kuda secara keseluruhan di Indonesia adalah 454.340 ekor dan di Aceh populasi kudanya dari tahun 2009-2013 berturut-turut adalah 3.362; 3.463; 2.495; 2.314; 2.331 (Direktorat Jenderal Peternakan, 2009-2013). Berdasarkan Situs Resmi BPS Aceh Tengah (2013), populasi kuda di Kabupaten Aceh Tengah pada tahun 2012 adalah 1.607 ekor.

Salah satu kendala yang dihadapi peternak kuda di Kabupaten Aceh Tengah yaitu manajemen pemeliharaan ternak kuda secara umum masih dipelihara secara tradisional dan pemeliharaan masih dilakukan secara turun temurun sehingga perkembangan ternak kuda mengalami hambatan karena sering ditemukan kontaminasi penyakit. Salah satu penyebab timbulnya penyakit pada kuda disebabkan oleh infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2  $\mu$ m, tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.*, 1995). Weese (2007),

menyatakan bahwa kuda dapat terinfeksi oleh *S. aureus* seperti infeksi pada luka, persendian, dan berbagai organ lain. Infeksi *S. aureus* pada kuda telah menghasilkan berbagai penyakit klinis seperti, pneumonia, arthritis, dermatitis, osteomyelitis, metritis, endokarditis, supuratif, folikulitis, septicemia, dan selulitis pada hewan (Ryan *et al.*, 1994).

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang menginfeksi organ reproduksi jantan, dapat mengontaminasi semen yang dapat menyebabkan penularan ke organ reproduksi betina pada saat perkawinan. Menurut Nicholson *et al.* (2000), bahwa semen dapat terkontaminasi oleh berbagai jenis bakteri. Moretti *et al.* (2009), membuktikan bahwa bakteri *S. aureus*, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Streptococcus agalactiae*, *S. epidermis*, *Streptococcus anginosus*, dan *Morganella morganii* sering mengontaminasi spermatozoa dan menyebabkan infertil pada manusia dan hewan. Bakteri dominan pada semen dapat menyebabkan endometritis sehingga tidak berhasil bunting meskipun sudah dilakukan inseminasi buatan, bahkan akan menimbulkan permasalahan baru yaitu peradangan pada endometrium sehingga hewan resipien tidak berahi dan kegagalan konsepsi (Diemer *et al.*, 2000).

Pengujian secara ilmiah yang dilakukan oleh Khadafi (2012), membuktikan bahwa dari 5 *swab* preputium

kerbau lumpur (*Swamp buffalo*) di Aceh Barat Daya seluruhnya positif teridentifikasi terinfeksi *S. aureus*. Pengujian ilmiah juga dilakukan oleh Fardi (2012), membuktikan dari 5 *swab* preputium kerbau (*Babalis bubalis*) di Aceh Barat Daya ditemukan lima jenis genus bakteri Gram negatif yaitu *E. coli*, *Salmonella* sp., *Citrobacter* sp., *Klebsiella* sp., dan *Proteus* sp. Penelitian yang dilakukan oleh Gunay *et al.* (2010), menunjukkan *swab* vagina pada 55 ekor anjing betina yang mengalami tahap siklus estrus tidak ada teridentifikasi bakteri *S. aureus*, jenis bakteri yang teridentifikasi seperti, *E. coli*, *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Streptococcus* sp., dan *Enterococcus* sp.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan identifikasi bakteri *S. aureus* yang dianalisis secara deskriptif. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 *swab* preputium dan 5 *swab* vagina dari 10 ekor kuda yang berumur 3-9 tahun yang berada di Desa Belang Bebangka, Gelelungi, Reloop, dan Kelapeng Kecamatan Pegasing Kabupaten Aceh Tengah. Bakteri diisolasi dari kuda dengan menggunakan *swab* steril, kemudian *swab* preputium dan vagina kuda dicelupkan ke dalam tabung reaksi yang berisi *nutrient broth* (NB). Tempat pegangan *swab* dipatahkan untuk menghindari kontaminasi dan dihomogenkan. Tabung yang berisi NB dimasukkan ke dalam termos yang berisi es. Sampel dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala untuk identifikasi bakteri.

Identifikasi *S. aureus* mengikuti metode Carter (1987). Terlebih dahulu dipanaskan ose di atas api bunsen lalu dinginkan sejenak, kemudian diambil suspensi kuman dari biakan NB, kemudian digoreskan pada media *manitol salt agar* (MSA) dengan menggunakan metode gores T dan dieramkan kembali dalam inkubator dalam suhu 37° C selama 24 jam. Dipilih koloni yang terpisah berbentuk bulat, cembung, pinggiran rata, dan berwarna kuning keemasan dengan konsentrasi lunak. Dengan menggunakan ose steril, diambil sebagian koloni lalu dilakukan pewarnaan Gram. Dilakukan pewarnaan Gram dengan membuat sediaan bakteri pada gelas obyek, difiksasi di atas api, kemudian diwarnai dengan kristal violet selama 3-5 menit, dicuci dengan air mengalir lalu digenangi dengan lugol selama 1 menit, dilunturkan zat warna tersebut dengan alkohol 96% selama 10 detik sampai zat warna hilang, dicuci lagi dengan air mengalir dan diwarnai dengan safranin selama 1 menit, dikeringkan preparat dan diberi sedikit minyak emersi lalu di amati di bawah mikroskop.

Selanjutnya koloni terpisah pada MSA tersebut dipindahhkan ke tabung NA miring lalu diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37° C. Koloni yang telah diamati secara mikroskopis ditanam pada NA miring untuk uji katalase, hemolysis, dan uji gula-gula. Pada uji katalase, gelas obyek dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian tetesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% di atas gelas obyek tersebut.

Koloni pada NA miring diambil dengan ose steril dan dihomogenkan ke larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% di atas gelas obyek dan diamati timbulnya gas. Pada uji gula-gula, koloni bakteri yang ada pada NA miring dipindahkan dengan ose steril ke dalam cairan yang berisi manitol dan glukosa. Lalu diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37° C. Pada uji hemolisis darah, yang digunakan adalah darah domba 250 ml. Pembuatan media agar darah menggunakan *blood agar base* 8 g, ditambahkan 200 ml akuades, panaskan hingga mendidih, sterilkan dengan menggunakan *autoclave*, masukkan ke *waterbath* dan ditunggu hingga suhu ke 45° C. Selanjutnya, ditambahkan darah domba 10 ml dan homogenkan, dimasukkan ke cawan petri, ditunggu hingga dingin dan bungkus cawan petri dengan kertas, dimasukkan ke dalam kulkas hingga 24 jam, supaya media agar darah mengeras dan siap dipakai untuk uji hemolisis. Terakhir, dilakukan uji hemolisis dengan menanam bakteri pada media agar darah, diinkubasikan selama 24 jam pada temperatur 37° C.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi kulit yang biasanya disebabkan oleh *S. aureus* yaitu impetigo, selulitis, folikulitis, dan abses (Salmenlina, 2002; Canada, 2008). Infeksi *S. aureus* yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, infeksi saluran kemih, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama sindrom syok toksik (Warsa, 1994).

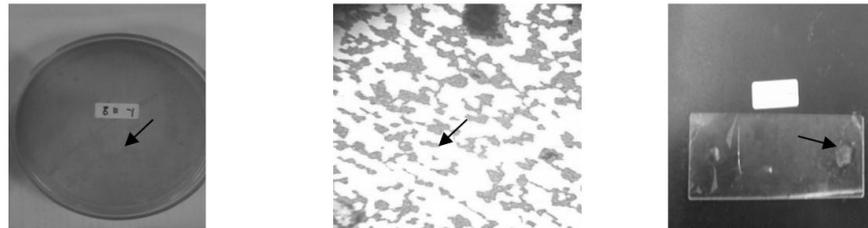
Dalam penelitian ini, identifikasi *S. aureus* menggunakan sampel kuda yang berjumlah 10 ekor yang terdiri dari 5 betina dan 5 jantan, berumur 3-9 tahun yang berada di Desa Belang Bebangka, Gelelungi, Relop, dan Kelapeng. Kriteria identifikasi untuk *S. aureus* selain morfologi koloni secara mikroskopis serta kemampuan melisis darah pada media *blood agar plate*, antara lain meliputi kemampuan produksi enzim katalase yang membedakan *S. aureus* dengan *Streptococcus* dan kemampuan fermentasi manitol pada MSA (Quinn *et al.*, 2002). Hasil identifikasi *S. aureus* disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil identifikasi pada preputium (Tabel 1), hasil penelitian ini sesuai dengan laporan Zulfikar *et al.* (2012), menunjukkan bahwa organisme yang paling sering diidentifikasi pada preputium anjing sehat adalah *Staphylococcus* sp. Ini semakin diperkuat dengan penelitian yang juga dilakukan oleh Saritas *et al.* (2012), membuktikan dari 50 preputium anjing sehat, 18 preputium positif teridentifikasi *S. aureus*. Anjing lain teridentifikasi jenis bakteri lain seperti, *E. coli* (15 ekor), *Proteus* sp. (8 ekor), *Pseudomonas* sp. (3 ekor) *Streptococcus* sp. (3 ekor), *Corynebacterium* sp. (1 ekor) dan *Bacillus* sp. (2 ekor). Tetapi dari semua jenis bakteri, *S. aureus* yang banyak teridentifikasi pada preputium anjing sehat.

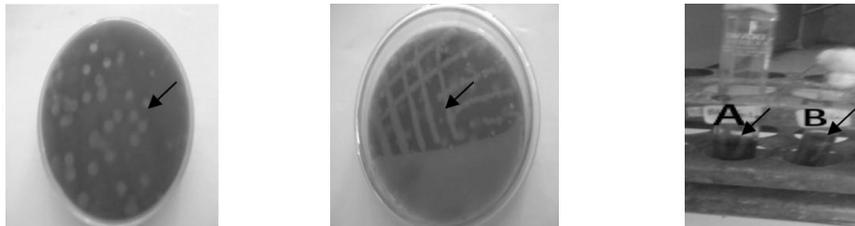
**Tabel 1.** Hasil identifikasi bakteri *S. aureus* pada preputium dan vagina kuda

Sampel swab	MSA	Pewarnaan Gram	Tipe hemolisis	Katalase	Uji fermentasi		Keterangan
					Manitol	Glukosa	
A	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>
B	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>
C	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>
D	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>
E	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>
F	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>
G	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>
H	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>
I	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>
J	+	+	β	+	+	+	<i>S. aureus</i>

A, B, C, D, E= Swab preputium, F, G, H, I, J= Swab vagina



**Gambar 3.** Morfologi *S. aureus* pada MSA (kiri), Morfologi *S. aureus* secara mikroskopis (tengah), hasil uji katalase (kanan)



**Gambar 4.** Morfologi *S. aureus* pada BAP (kiri), tipe hemolisis (tengah), uji gula-gula: manitol (A) dan glukosa (B) (kiri)

Identifikasi pada vagina (Tabel 1), sesuai dengan laporan Nava *et al.* (2010), yang membuktikan adanya mikroorganisme di vagina, *S. aureus* dan *Arcanobacterium pyogenes* yang paling banyak tumbuh di organ ini dibandingkan dengan jenis bakteri lain yaitu masing-masing 10 ekor dari 52 ekor sapi sehat, sedangkan 32 ekor lagi teridentifikasi jenis bakteri lain seperti, *S. epidermidis* (2 ekor), *S. hyicus* (2 ekor), *S. sacharolyticus* (1 ekor), *S. intermedius* (4 ekor), *S. xilosaa* (2 ekor), *Peptostreptococcus* spp (7 ekor), *Bacteroides* spp (7 ekor), *Bacteroides nodosus* (1 ekor), *Bacteroides vulgatus* (2 ekor), *Bacteroides melaninogénicus* (3 ekor) dan *E. coli* (1 ekor). Selain vagina normal, vagina yang mengalami peradangan juga ditemukan *Staphylococcus* sp. Ini telah dibuktikan oleh Ajala *et al.* (2011), menemukan adanya *Staphylococcus* sp. pada kambing betina di Turki. Hasil pengamatan dari identifikasi bakteri *S. aureus* disajikan pada Gambar 3 dan Gambar 4.

*Staphylococcus aureus* positif tumbuh pada media MSA, media dan koloni berwarna kuning karena terjadi fermentasi manitol menjadi asam. Produk yang dihasilkan bakteri ini adalah asam organik yang mengubah indikator pH di MSA, merubah warna merah media MSA menjadi kuning cerah (Tambayong, 2009). Media MSA mengandung konsentrasi garam NaCl yang tinggi (7,5%-10%) sehingga membuat MSA menjadi media selektif untuk *Micrococcaceae* dan *Staphylococcus*, karena tingkat NaCl yang tinggi

menghambat bakteri yang lain tumbuh (Boerlin *et al.*, 2003).

Pewarnaan Gram adalah teknik pewarnaan diferensial yang memisahkan bakteri menjadi dua kelompok yaitu Gram positif dan Gram negatif (Harley dan Presscot, 2002). Bakteri Gram positif mempertahankan zat warna kristal violet karenanya tampak ungu tua sedangkan bakteri Gram negatif kehilangan kristal violet ketika dicuci dengan alkohol dan waktu diberi pewarna tandingan dengan warna merah safranin tampak berwarna merah (Zubaidah, 2006). Menurut Purves dan Sadava (2003), perbedaan warna tersebut dikarenakan perbedaan ketebalan dinding peptidoglikan bakteri, bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan lebih tipis dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Perbedaan ketebalan dinding ini mengakibatkan perbedaan kemampuan afinitas dengan pewarna Gram.

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *S. aureus* terdiri atas α-hemolisin, β-hemolisin, dan γ-hemolisisin. *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan α-hemolisin akan membentuk zona terang di sekitar koloni, yang menghasilkan β-hemolisin akan membentuk zona gelap agak bening di sekitar koloni dan yang menghasilkan gama hemolisin tidak membentuk hemolisisin (Khusnan *et al.*, 2008). Hasil yang didapat pada seluruh sampel adalah β-hemolisin. β-hemolisin adalah toksin yang terutama

dihasilkan *Staphylococcus* yang diisolasi dari hewan, yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi (Warsa, 1994).

Uji katalase penting untuk membedakan *Streptococcus* dengan *Staphylococcus* (Foster, 2004; Todar, 2005). Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob dapat menguarikan zat toksik tersebut (Waluyo, 2005). Penentuan adanya katalase diuji dengan larutan  $H_2O_2$  3% pada bakteri *S. aureus* yang telah dibiakkan dalam media NA miring. Pada bakteri yang bersifat katalase positif terlihat pembentukan gelembung di dalam tabung reaksi.

Fermentasi adalah proses penggunaan senyawa makromolekul organik menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh aktivitas mikroba pada kondisi anaerob (Pelczar dan Chan, 2008). *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada temperatur antara 150-450 dan pada NaCl 15% mampu memfermentasi manitol serta mampu memfermentasi glukosa menghasilkan asam laktat (Todar, 2005). Uji fermentasi larutan manitol yang positif pada *S. aureus* yaitu terjadi perubahan warna medium menjadi kuning menunjukkan bahwa *S. aureus* merubah manitol yang menghasilkan asam laktat sehingga dapat mengubah pH medium menjadi asam (Johnson dan Case, 1995; Sari, 2003). Terjadi perubahan warna media dari ungu menjadi kuning karena dapat memfermentasikan manitol (Beishir, 1991; Cappucino dan Sherman, 2005). Menurut Volk dan Wheeler (1993), sebagian besar mikroorganisme memperoleh energi dari substrat berupa karbohidrat yang selanjutnya difermentasi menghasilkan asam-asam organik (seperti asam laktat dan asetat) dengan disertai atau tidak disertai pembentukan gas.

Keberadaan bakteri di organ preputium dan vagina sangatlah kompleks karena menyangkut interaksi dari berbagai faktor, baik dari *host* dan dari faktor virulensi bakteri. Dua jalur utama terpapar bakteri bakteri adalah hematogen dan *ascending*. Di preputium, jalur *ascending* bakteri melekat ke permukaan mukosa dan berlanjut ke organ preputium, hidup secara komensal di dalam preputium, penis, kulit perineum dan sekitar anus. Peradangan pada vagina yang ditandai dengan erosi dan ulserasi ini sangat umum terjadi pada kuda. Hal ini dikarenakan vagina dan vulva adalah organ kopulasi dan organ partus. Perlukaan sangat rentan terjadi pada vagina, terutama saat pascapartus sehingga memungkinkan terjadinya infeksi *S. aureus* yang rentan terhadap perlukaan.

Salah satu mikroorganisme yang paling banyak tumbuh pada organ preputium dan vagina adalah bakteri *S. aureus*. Lemahnya pertahanan tubuh telah menyebabkan bakteri *S. aureus* dari organ preputium maupun vagina masuk ke dalam saluran kemih. Bakteri ini kemudian berkembang biak di saluran kemih sampai ke kandung kemih bahkan sampai ke ginjal. Mikroorganisme memasuki saluran kemih melalui

*urethra-prostata-vas deferens-buli-buli-ureter* sampai ke ginjal. Jalur masuk bakteri ke dalam tubuh yang paling sering adalah ketika selaput mukosa bertemu dengan kulit seperti saluran kelamin. Menurut Samirah *et al.* (2006), bahwa ujung uretra bagian bawah dapat dihuni oleh bakteri yang dekat dengan kandung kemih. Setelah melalui uretra biasanya sudah tercemar dengan bakteri yang terdapat di meatus uretra dan preputium atau vagina. Infeksi yang terjadi tergantung dengan virulensi kuman dan mekanisme pertahanan tubuh.

Selain itu, penggunaan antibiotik yang berlebihan dan perubahan genetik juga akan menyebabkan infeksi saluran kemih (Rosihan, 2008). *Staphylococcus aureus* memiliki plasmid yang berada di luar kromosom, plasmid mengandung berbagai macam gen, salah satu gennya adalah resistensi terhadap antibiotik. Manajemen peternakan tradisional yang kurang memperhatikan sanitasi kandang dan tingkat perawatan kebersihan ternak kuda masih rendah sehingga dapat memberi peluang paparan kontaminasi berbagai mikroorganisme bakteri pada organ preputium maupun vagina.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa bakteri *S. aureus* berhasil diidentifikasi pada seluruh *swab* preputium dan vagina kuda yang berumur 3-9 tahun di Belang Bebangka, Gelelungi, Reloop, dan Kelapeng Kecamatan Pegasing Kabupaten Aceh Tengah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ajala, O.O., A.O. Okunlade, O.F. Ogundare, Adekemi, A. Adeshoga, A.M. Afolabi, and R.E. Oludare. 2011. The prevalence and identification of the bacteria associated with caprine vulvovaginitis in ibadan. **J. Anim. Vet. Adv.** 14(8):1115-1118.
- Badan Pusat Statistik. 2013. Populasi Ternak Besar di Aceh Tengah. <http://acehtengahkab.bps.go.id/?r=artikel/view&id=50>.
- Beishir, L. 1991. **Microbiology in Practice: A Self-Instructional Laboratory Course**. 5<sup>th</sup> ed. Harper Collins Publishers Inc., New York. USA.
- Boerlin, P., P. Kuhnert, D. Hussy, and M. Schaellibaum. 2003. Methods for identification of *S. aureus* isolates in cases of bovine mastitis. **J. Clin. Microbiol. Am. Soc. Microbiol.** 41(2):767-769.
- Canada, K. 2008. Bacterial Structure in Relationship to Pathogenicity. **Todar's Online Textbook of Bacteriology**.
- Cappucino, J.G. and N. Sherman. 2005. **Microbiology: A Laboratory Manual**. 7<sup>th</sup> ed. Pearson Education Inc., USA.
- Carter, G.R. 1987. **Essentials of Veterinary Bacteriology and Micology**. 3<sup>rd</sup> ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Diemer, T., P. Huwe, H.W. Michelmann, F. Mayer, H.G. Schicfer, and W. Weidner. 2000. Escherichia coli-induced alterations of human spermatozoa an electron microscopy analysis. **Int. J. Androl.** 23:178-186.
- Direktorat Jenderal Peternakan. 2009-2013. **Statistik Peternakan 2009-2013**. Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian Govt.
- Fardi, S. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif pada Preputium Kerbau (*Bubalus bubalis*) Berasal dari Aceh Barat Daya. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- Foster, T.J. 2004. **Analisis Mikroba di Laboratorium**. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Gunay, U., K. Onat, A. Gunay, and M. Ulgen. 2010. Vaginal, cervical and uterine bacterial flora at the different stages of the reproductive cycle in ovariohysterectomized bitches. **J. Anim. Vet. Adv.** 9(3):478-481.

- Harley, J.P. and L.M. Prescott. 2002. **Laboratory Exercises in Microbiology**. 1<sup>st</sup> ed. The McGraw-Hill Companies, USA.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, E.A. Adelberg, G.F. Brooks, J.S. Butel, and L.N. Ornston. 1995. **Mikrobiologi Kedokteran**. (Diterjemahkan Nugroho dan R.F. Maulany). Edisi ke-20. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Johnson, T.R. and C.L. Case. 1995. **Laboratory Experiments in Microbiology**. 4<sup>th</sup> ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., California, USA.
- Khadafi, M. 2012. Identifikasi *S. aureus* pada Preputium Kerbau Lumpur (*Swamp buffalo*) di Aceh Barat Daya. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- Khusnan, Salasia, dan Soegiyono. 2008. Isolasi, identifikasi dan karakterisasi fenotipe bakteri *S. aureus* dari limbah penyembelihan dan karkas ayam potong. **J. Vet. Adv.** 9(1): 45-51.
- Moretti, E., C. Figura, N. Pammoli, A. Federico, V. Giannerini, and G. Colodel. 2009. The presence of bacteria species in semen and sperm quality. **J. Assist. Reprod. Genet.** 26(1):47-56.
- Nava, S.Z., J.B. Ocampo, and J. Nava. 2010. Normal bacterial flora from vaginas of Criollo Limonero cows. **Am. J. Vet. Res.** 43:291-294.
- Nicholson, C.M., L. Abramsson, S.E. Holm, and E. Bjuurulf. 2000. Bacterial contamination and sperm recovery after semen preparation by density gradient centrifugation using silane-coated silica particles at different forces. **Hum. Reproduct.** 15(3):662-666.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 2008. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. UI-Press, Jakarta.
- Purves, W.K. and D.E. Sadava. 2003. **Life the Science of Biology**. 7<sup>th</sup> ed. Sinauer Associates Inc., New York.
- Quinn, P.J., B.K. Markey, M.E. Carter, W.J. Donnelly, and F.C. Leonard. 2002. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. Blackwell Publishing, USA.
- Rosihan, A. 2006. Bakteri Gram positif dari air kemih. **Majalah Kedokteran Nusantara**. 41(1):36-38.
- Ryan, K.J., J.J. Champoux, S. Falkow, J.J. Plonde, W.L. Drew, F.C. Neidhardt, and C.G. Roy. 1994. **Medical Microbiology an Introduction to Infectious Diseases**. 3<sup>rd</sup> ed. Appleton&Lange, Connecticut.
- Salmenlina, S. 2002. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *S. aureus* in Finland. **Disertation**. The National Public Health Institute. Helsinki.
- Samirah, Windawarti, Darmawati, dan Harjoeno. 2006. Pola sensitivitas kuman di penderita infeksi saluran kemih. **J. Anim. Vet. Adv.** 12(3):110-130.
- Sari, R.W. 2003. Pengaruh Pemberian Gerusan Daun Sirih Hitam, Gerusan Daun Sirih Jawa dan Oksitetrasiklin secara Topikal terhadap Lama dan Waktu Kesembuhan Luka Infeksi *S. aureus* pada Tikus Putih. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Saritas, Z K., S. Konak, K. Pamuk, M. Korkmaz, A.C. Demirkan, and T. Civelek. 2012. Identifikasi and antimicrobial susceptibility of mikroorganisme isolated from the preputium of healthy dogs. **J. Anim. Vet. Adv.** 11(4):553-555.
- Tambayong, J. 2009. **Mikrobiologi untuk Keperawatan**. Widya Medika, Jakarta.
- Todar, K. 2005. **Salmonella and Salmonellosis. Todar's Online Textbook of Bacteriology**. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. Wisconsin.
- Volk, N. dan P. Wheeler. 1993. **Analisis Praktikum Mikrobiologi Umum untuk Perguruan Tinggi**. UGM Press, Yogyakarta.
- Waluyo, L. 2005. **Mikrobiologi Umum**. Edisi ke-2. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Warsa, U.C. 1994. **Staphylococcus dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran**. Edisi Revisi. Penerbit Binarupa Aksara. Jakarta.
- Weese, J.S. 2007. **MRSA-Methicillin-resistant S. aureus, Equine Medical Services**. Department of Clinical Studies, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.
- Zubaidah, K. 2006. **Mikrobiologi Umum**. Universitas Brawijaya, Malang.
- Zulfikar, S., K. Musa, B. Aysun, and T. Civelek. 2012. Identification antimicrobial of mikroorganisme isolated from the preputium of healthy dogs. **Am. J. Vet. Adv.** 11(4):553-555.