

Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Staphylococcus* sp. Berdasarkan Gen Enterotoksin A pada Susu Formula

Skripsi



**Prayolga Toban Palilu
31120016**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2016**

Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Staphylococcus* sp. Berdasarkan Gen Enterotoksin A pada Susu Formula

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



Prayolga Toban Palilu
31120016

Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2016

Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER *Staphylococcus* sp. BERDASARKAN GEN ENTEROTOKSIN A PADA SUSU FORMULA

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

PRAYOLGA TOBAN PALILU

31120016

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada tanggal 17 Oktober 2016

Nama Dosen

Tanda Tangan

1. Tri Yahya Budiarmo, S.Si, M.P.

(Ketua Tim/Dosen Pembimbing I/ Dosen Penguji)

2. Dr. Dhira Satwika, M.Sc.

(Dosen Pembimbing II/ Dosen Penguji)

3. Dr. Charis Amarantini, M.Si

(Dosen Penguji)

Yogyakarta, 31 Oktober 2016

Disahkan Oleh:

Dekan,



Drs. Kisworo, M.Sc

Ketua Program Studi,

Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Prayolga Toban Palilu

NIM : 31120016

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul :

“Isolasi Dan Identifikasi Molekuler *Staphylococcus* sp. Berdasarkan Gen Enterotoksin A Pada Susu Formula”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 31 Oktober 2016



Prayolga Toban Palilu

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala berkat dan pemyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Isolasi Dan Identifikasi Molekuler *Staphylococcus* sp. Berdasarkan Gen Enterotoksin A Pada Susu Formula”, sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di Progam Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak akan terwujud tanpa adanya kontribusi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. Kisworo, M.Sc selaku Dekan Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta
2. Tri Yahya Budiarmo S.Si, M.P. dan Dr. Dhira Satwika ,M.Sc selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, tenaga, pikiran, untuk mengarahkan saya dalam penulisan skripsi ini.
3. Drs. Djoko Rahardjo, M.Kes. selaku dosen wali penulis yang selalu memberikan bantuan tak terhingga selama menempuh studi di UKDW
4. Seluruh dosen, laboran, dan Staf Fakultas Bioteknologi yang memberikan bantuan selama ini.
5. Para laboran Laboratorium Fakultas Bioteknologi: Kak Teo, Mas Is, Mbak Retno, Mas Setyo, dan Mas Hari dan Kak Dewi.
6. Orangtua dan keluarga yang telah memberikan dorongan moril dan material kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Shandy Pading Lewa, Mega Toban Palilu, Gita Toban Palilu dan Calvin Toban Palilu
8. Semua pihak yang telah memberikan dukungan kepada penulis yang tidak dapat disebutkan satu per satu, hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang terdapat dalam skripsi ini. Kritik dan saran yang membangun dari pembaca sangat diharapkan guna perbaikan laporan atau karya selanjutnya. Akhirnya penyusun berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Yogyakarta, 7 Oktober 2016

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
Abstrak	1
Abstract	2
BAB I. PENDAHULUAN.....	3
1.1 Latar Belakang	3
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
BAB II. STUDI PUSTAKA.....	5
2.1. Kontaminasi Cemaran <i>Staphylococcus</i> sp.Pada Susu	5
2.2. Karakterisasi Biokimiawi dan Molekuler <i>Staphylococcus</i> sp.Berdasarkan Gen Enterotoksin A	5
BAB III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN.....	8
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	8
3.2 Alat	8
3.3 Bahan.....	8
3.4 Cara Kerja.....	8
3.4.1 Preparasi alat dan bahan.....	8
3.4.2 Koleksi sampel.....	8
3.4.3 <i>Enrichment</i>	8
3.4.4.Isolasi dan seleksi.....	8
3.4.5 Konfirmasi biokimiawi menggunakan API-Staph.....	9
3.4.6 Identifikasi gen penghasil enterotoksin A.....	9
3.4.6.1 Isolasi DNA	9
3.4.6.2.Amplifikasi DNA.....	9
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	10
4.1 Isolasi koloni terduga <i>Staphylococcus</i> sp.	10
4.2 Karakterisasi biokimiawi <i>Staphylococcus</i> sp.pada susu formula	12

4.3 Deteksi gen enterotoksin A pada <i>Staphylococcus</i> sp.	17
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	19
DAFTAR PUSTAKA	20
LAMPIRAN.....	22

©UKDWN

DAFTAR GAMBAR**Halaman**

Gambar 1. Kenampakan koloni yang tumbuh pada media pada BPA.....	10
Gambar 2. Seleksi koloni terduga <i>Staphylococcus</i> sp. dengan medium MSA	13
Gambar 3. Uji katalase menggunakan H ₂ O ₂	13
Gambar 4. Morfologi bakteri <i>Staphylococcus</i> sp. pada perbesaran 1000 kali	14
Gambar 5. Uji fermentasi karbohidrat menggunakan xylosa, maltosa, tetralosa dan sukrosa.....	14
Gambar 6. Hasil konfirmasi isolat <i>S. hemoliticus</i> dengan API Staph.....	16
Gambar 7. Hasil Amplifikasi DNA <i>S. aureus</i> dan <i>S. hemoliticus</i>	17

©UKDW

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi Medium	22
Lampiran 2. Bagan Alir Cara Kerja Penelitian	23
Lampiran 3. Bagan Alir Cara Kerja Uji Konfirmasi Menggunakan API Staph	24
Lampiran 4. Hasil Konfirmasi Biokimiawi dengan API-Staph	25
Lampiran 5. Cara Kerja Ekstraksi DNA	30

©UKDWN

Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Staphylococcus* sp. Berdasarkan Gen Enterotoksin A pada Susu Formula

PRAYOLGA TOBAN PALILU

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Abstrak

Staphylococcus sp adalah salah satu kelompok bakteri yang paling berbahaya karena merupakan bakteri yang paling banyak menyebabkan keracunan makan. Bakteri ini adalah bakteri patogen yang mampu membentuk enterotoksin. Susu adalah makanan yang paling sering terkontaminasi oleh *Staphylococcus* sp., yang apabila dikonsumsi dapat menyebabkan keracunan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya cemaran *Staphylococcus* sp. pada susu formula. Sebanyak 14 susu formula yang dijual bebas di pasaran digunakan sebagai sampel untuk isolasi bakteri. dan ditumbuhkan di media *enrichment* menggunakan *Brain Heart Infusion broth* (BHI broth), kemudian diisolasi ke dalam medium *Baird Parker Agar* (BPA). Tipikal koloni *Staphylococcus* sp. pada BPA diseleksi menggunakan *Manitol Salt Agar*, pengecatan gram, uji katalasedan uji fermentasi karbohidrat. Konfirmasi secara biokimia menggunakan API-Staph didapatkan 5 jenis bakteri, yaitu *S. hemoliticus* (87,0%) pada sampel susu formula dengan label S9, *S. aureus* (65,9%) pada sampel dengan label S6, *S. aureus* (97,7%) pada sampel S5, *S. epidermidis* (68,8%) pada sampel S3 dan *S. hemoliticus* (98,2%) pada sampel S4. Uji gen enterotoksin A pada 2 sampel, yaitu pada S5 dan S4 sampel pilihan berdasarkan pada uji secara molekuler dengan PCR pada target 120 bp menghasilkan hasil positif memiliki gen enteroksin A.

Kata kunci: *Staphylococcus* sp., enterotoksin A, susu formula

Isolation and Molekuler Identification of *Staphylococcus* sp. Based on Enterotoksin A Gene in Infant Formula

PRAYOLGA TOBAN PALILU

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Abstract

Staphylococcus sp is one of the most dangerous bacteria that could cause food poisoning. It is a pathogenic bacteria which are able to produce enterotoxin in foods. Milk is the most common habitat for *Staphylococcus* sp growth, that may cause problem if it is to be consumed, especially by infant. It is the objective of this research to detect the presence of *Staphylococcus* sp in powdered-infant formula. As many as 14 samples obtained from market were used as samples for bacterial isolation. The isolation were done by employing enrichment step on BHI-broth, continued with Baird-Parker Agar which will produce a typical colony. It is then picked and grown on Mannitol Salt Agar, and gram staining, katalase assay, and fermentation tests. The confirmation step was done by using API-Staph which gives the identification of *Staphylococcus hemolyticus*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, with a percentage of identity ranging from 65.9-97.7%. Two isolates with the highest identification similarity values were then picked for molecular detection. A PCR primer pair targetting gene coding for enterotoxin A was used, and it gives positive result for the two isolates being tested.

.Keyword: *Staphylococcus* sp., enterotoksin A gene, infant formula

Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Staphylococcus* sp. Berdasarkan Gen Enterotoksin A pada Susu Formula

PRAYOLGA TOBAN PALILU

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Abstrak

Staphylococcus sp adalah salah satu kelompok bakteri yang paling berbahaya karena merupakan bakteri yang paling banyak menyebabkan keracunan makan. Bakteri ini adalah bakteri patogen yang mampu membentuk enterotoksin. Susu adalah makanan yang paling sering terkontaminasi oleh *Staphylococcus* sp., yang apabila dikonsumsi dapat menyebabkan keracunan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya cemaran *Staphylococcus* sp. pada susu formula. Sebanyak 14 susu formula yang formula yang dijual bebas di pasaran digunakan sebagai sampel untuk isolasi bakteri. dan ditumbuhkan di media *enrichment* menggunakan *Brain Heart Infusion broth* (BHI broth), kemudian diisolasi ke dalam medium *Baird Parker Agar* (BPA). Tipikal koloni *Staphylococcus* sp. pada BPA diseleksi menggunakan *Manitol Salt Agar*, pengecatan gram, uji katalasedan uji fermentasi karbohidrat. Konfirmasi secara biokimia menggunakan API-Staph didapatkan 5 jenis bakteri, yaitu *S. hemoliticus* (87,0%) pada sampel susu formula dengan label S9, *S. aureus* (65,9%) pada sampel dengan label S6, *S. aureus* (97,7%) pada sampel S5, *S. epidermidis* (68,8%) pada sampel S3 dan *S. hemoliticus* (98,2%) pada sampel S4. Uji gen enterotoksin A pada 2 sampel, yaitu pada S5 dan S4 sampel pilihan berdasarkan pada uji secara molekuler dengan PCR pada target 120 bp menghasilkan hasil positif memiliki gen enteroksin A.

Kata kunci: *Staphylococcus* sp., enterotoksin A, susu formula

Isolation and Molekuler Identification of *Staphylococcus* sp. Based on Enterotoksin A Gene in Infant Formula

PRAYOLGA TOBAN PALILU

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Abstract

Staphylococcus sp is one of the most dangerous bacteria that could cause food poisoning. It is a pathogenic bacteria which are able to produce enterotoxin in foods. Milk is the most common habitat for *Staphylococcus* sp growth, that may cause problem if it is to be consumed, especially by infant. It is the objective of this research to detect the presence of *Staphylococcus* sp in powdered-infant formula. As many as 14 samples obtained from market were used as samples for bacterial isolation. The isolation were done by employing enrichment step on BHI-broth, continued with Baird-Parker Agar which will produce a typical colony. It is then picked and grown on Mannitol Salt Agar, and gram staining, katalase assay, and fermentation tests. The confirmation step was done by using API-Staph which gives the identification of *Staphylococcus hemolyticus*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, with a percentage of identity ranging from 65.9-97.7%. Two isolates with the highest identification similarity values were then picked for molecular detection. A PCR primer pair targetting gene coding for enterotoxin A was used, and it gives positive result for the two isolates being tested.

.Keyword: *Staphylococcus* sp., enterotoksin A gene, infant formula

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar belakang

Staphylococcus sp. adalah flora normal yang hidup pada kulit manusia dan hewan dan dapat menyebabkan keracunan bila mencemari makanan yang dikonsumsi oleh manusia (Arcuri *et al.*, 2010). Kasus keracunan makanan terbanyak di dunia disebabkan oleh kelompok bakteri *Staphylococcus sp.* (Asao *et al.*, 2002). Bakteri ini adalah bakteri patogen yang mampu membentuk enterotoksin. Salah satu makanan yang paling sering terkontaminasi oleh *Staphylococcus sp.* adalah susu. Keracunan akibat bakteri ini banyak ditemukan pada konsumen yang mengonsumsi susu segar dan makanan yang siap makan (Handayani *et al.*, 2014). Hal itu disebabkan karena pemerahan susu yang tidak higienis, luka pada puting susu, adanya mikroorganisme patogen di lingkungan kandang serta manajemen makanan yang kurang diperhatikan (Arcuri *et al.*, 2010). *Staphylococcus sp.* dikenal sebagai bakteri patogen karena memiliki faktor virulensi dan menghasilkan enterotoksin A yang sering menyebabkan gastroenteritis (Prasetyo, 2015). Hasil identifikasi molekuler membuktikan bahwa *Staphylococcus sp.* yang menghasilkan enterotoksin A yang menyebabkan mual, muntah, dan diare (Asao *et al.*, 2002).

Kasus keracunan makanan akibat terkontaminasinya susu oleh bakteri *Staphylococcus sp.* yang menghasilkan enterotoksin A terjadi perlakuan pada makanan yang kurang higienis, seperti penyimpanan yang kurang baik dan pemanasan yang kurang sempurna. Suhu yang digunakan dalam proses pasteurisasi tidak terlalu tinggi untuk mencegah kerusakan susu sehingga tidak menjamin bakteri yang terkontaminasi dalam susu pasteurisasi dapat tereliminasi. Hal ini merupakan salah satu faktor yang menyebabkan bakteri pada susu tersebut belum tentu mati karena pemanasan (Dewi, 2014). Enterotoksin tahan pada suhu 110°C selama 30 menit, dan dalam jumlah 10^6 - 10^8 cfu/ml berpotensi menghasilkan toksin (Suwito, 2010). Tahap pemanasan susu seharusnya merupakan salah satu upaya untuk meminimalisasi adanya kontaminasi oleh bakteri (Irwanto, 2015).

Susu banyak diminati oleh sebagian besar masyarakat Yogyakarta. Oleh karena banyaknya penggemar susu, pembuatan produk olahan susu merupakan peluang usaha yang banyak diminati. Susu pasteurisasi juga mudah sekali dijumpai dipinggir jalan yang diperdagangkan oleh pedagang kaki lima (PKL). Kebutuhan hiburan dan tempat berkumpul masyarakat juga dimanfaatkan oleh produsen susu pasteurisasi untuk membuka cafe susu.

Pada beberapa penelitian, cemaran *Staphylococcus sp.* ditemukan pada susu segar yang berada di penampungan susu Sleman, Yogyakarta (Putra, 2014) dan pada susu segar hasil pasteurisasi (Dewi, 2014). Selain itu, telah ditemukan juga cemaran *Staphylococcus sp.* pada susu yang dijual bebas di PKL dan Cafe Yogyakarta (Irwanto, 2015) yang telah diuji secara molekuler dan terdeteksi cemaran *S. aureus* yang memiliki gen enterotoksin A.

Enterotoksin A merupakan salah satu faktor virulensi yang dimiliki oleh kelompok *Staphylococcus sp.* faktor virulensi inilah yang menyebabkan bakteri tersebut bersifat patogen, terutama jika mengkontaminasi produk makanan. Dampak yang ditimbulkan adalah keracunan makan. Enterotoksin A resistensi pada beberapa pemanasan dan pada suhu-suhu ekstrim. Suhu optimal untuk pembentukan enterotoksin adalah 35 – 37°C. Enterotoksin bila mencemari makanan ini dapat menimbulkan gastroenteritis. Enterotoksin juga diproduksi pada kisaran pH yang lebih rendah dibandingkan nilai pH pertumbuhan bakterinya, dan batas pH untuk dapat memproduksi enterotoksin pada makanan adalah 5. Nilai pH optimum untuk produksi enterotoksin berada pada kisaran 7-8.

Berdasarkan hasil temuan diatas, penulis tertarik untuk mengidentifikasi adanya cemaran *Staphylococcus sp.* penghasil gen enterotoksin A yang diisolasi dari sampel susu formula yang telah melalui proses yang sama dengan sampel susu segar yang terdapat di penampungan susu Sleman serta sampel susu yang dijual di cafe dan PKL dan positif tercemar oleh *Staphylococcus sp.* yang memiliki enterotoksin A.. Sampel yang digunakan adalah beberapa susu formula yang beredar bebas di pasaran. Dalam pelaksanaannya akan dilakukan karakterisasi isolat *Staphylococcus sp.* secara biokimia dan molekuler.

1.2. Perumusan masalah

Kontaminasi *Staphylococcus* sp. penghasil gen enterotoxin A pada makanan dapat menyebabkan gangguan pencernaan. Salah satu makanan yang cenderung terkontaminasi *Staphylococcus* sp. adalah susu. Beberapa penelitian membuktikan adanya kontaminasi oleh *Staphylococcus* sp. pada susu segar di tempat penampungan susu dan susu segar yang telah mengalami pasteurisasi. Hasil isolasi bakteri *Staphylococcus* sp. penghasil gen enterotoxin A dari susu formula yang berasal dari susu segar hasil pasteurisasi akan dikaji secara biokimia dan molekular untuk mendapatkan isolat *Staphylococcus* sp. penghasil gen enterotoxin A.

1.3. Tujuan

- 1.3.1. Isolasi dan identifikasi biokimia *Staphylococcus* sp. pada susu formula menggunakan API-Staph
- 1.3.2. Deteksi gen enterotoksin A dari *Staphylococcus* sp. yang diperoleh dari susu formula dengan teknik PCR

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Terdapat 2594 koloni yang tumbuh hasil isolasi bakteri dari 14 sampel susu formula yang beredar di pasaran. 180 diantaranya adalah koloni yang diduga sebagai koloni *Staphylococcus sp.*, 6 diantaranya diuji dengan Api-Staph dan terdeteksi *S. hemolyticus* (87,0%), *S. aureus* (65,9%), *S. aureus* (97,7%), *S. epidermidis* (68,8%) dan *S. hemolyticus* (98,2%).
2. Hasil pengujian secara molekuler dengan mendeteksi gen enterotoksin A (*sea*) , didapatkan 2 isolat positif dan semua isolat berasal dari susu formula bayi yang beredar di pasaran di Yogyakarta.

5.2. Saran

1. Proses pemerahan susu pada peternakan susu hendaknya menggunakan sarung tangan agar mengurangi faktor pencemar pada susu segar yang akan diolah.
2. Pabrik yang memproduksi susu hendaknya memperhatikan treatment pemanasan agar susu yang akan dikemas telah mengalami pemanasan yang sempurna.

DAFTAR PUSTAKA

- Arcuri, E.F., Fonseca, M., Guimara, M., Talon, G., Borges, M. D. E. F., Leroy, S., Jose, L. I. O., & Lange, C. C. (2010). Toxigenic Status of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Raw Milk and Minas Frescal Cheese in Brazil, 73(12), 2225–2231.
- Asao, T., Kumeda, T., Kawai T., Sibata T., Oda H., Haruki K., Nakazawa H., Kozaki S. (2002). An extensive outbreak of Staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk, *Epidemiol. Infect* (2003), 130, 33-40. <http://doi.org/10.1017/S0950268802007951>
- Dewi, N. A. (2014). Skripsi : Deteksi *Staphylococcus* sp Pada Produk Susu Pasteurisasi Di Kabupaten Sleman, Yogyakarta. Yogyakarta : Universitas Kristen Duta Wacana
- Chotiah, S. (2013). Screening of Lactic Acid Bacteria as a Growth Inhibitors of *Staphylococcus aureus*. <http://peternakan.litbang.pertanian.go.id/fullteks/semnas/pro13-63.pdf?secure=1>
- Gotz F, Bannerman T and Schleifer KH.2006.The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. Review Journal Cahpter 1.2.1 http://doi.org/110.1007/0-387-30744-3_1.x
- Khoiriyah, F. 2011. Identifikasi molekular Isolat *Staphylococcus aureus* dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Haghkhal, M., Esmailnezhad, Z., & Ghaffari, N. (2014). Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from food samples in Iran, 1209–1213. <http://doi.org/10.1007/s00580-013-1764-y>
- Handayani, L., & Faridah, D. N. U. R. (2014). Staphylococcal Enterotoxin A Gene – Carrying *Staphylococcus aureus* Isolated from Foods and Its Control by Crude Alkaloid from Papaya Leaves, 77(11), 1992–1997. <http://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-483>
- Handoyono, D. Rudiretna, A. 2011. General Principles and Implementation of Polymerase Chain Reaction. *Unitas*, Vol. 9, No. 1, September 2000 - Pebruari 2001, 17-29
- Harmon, R. J., Langlois, B. E., Harmon, R. J., & Akers, K. (2016). Identification of staphylococcus species of bovine origin with the API STAPH-Iden System Identification of *Staphylococcus* Species of Bovine Origin with the API Staph-Ident System, (February).
- Herlina, N., Afiati, F., Cahyo, A. D., & Herdiyani, P. D. (2015). Isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* dari susu mastitis subklinis di Tasikmalaya , Jawa Barat <http://doi.org/10.13057/psnmbi/m010305>
- Marshall, R. T. (ed.).1993 . Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 16Th. ed. American Public Health Association, Washington, D.C
- Irwanto, M. I.(2015). Skripsi : Karakterisasi Biokimia dan Molekuler Isolat *Staphylococcus aureus* dari Produk Susu Segar Karakterisasi Biokimia dan Molekuler Isolat. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta
- Putra C. M., (2014). Skripsi : Deteksi *Staphylococcus aureus* Pada Susu Sapi Segar Di Tempat Penampungan Susu Di Kabupaten Sleman, Yogyakarta. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta
- Prasetyo, B. (2010.). Identification Enterotoxine And Exfoliative Gene Of *Staphylococcus Aureus* Isolates From Goat ' S Milk And Dairy Cow ' S Milk From Bogor
- Prasetyo, B., & Kusumaningrum, N. (2014). Detection *tst* Gene of *Staphylococcus aureus* Isolates Through Amplification of 23S rRNA from Goat ' s Milk and Dairy Cow ' s Milk, 8(1), 1–4.

- Suwito, W. Indarjulianto. 2013. *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis Pada Kambing Peranakan Etawah: Epidemiologi, Sifat Klinis, Patogenesis, Diagnosis Dan Pengendalian, Vol. 23 No. 1 Th. 2013. Universitas Gajah Mada : Yogyakarta.
- Wahyuni, 2015. Deteksi *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis Subklinis Pada Kerbau Perah (*Bubalus Bubalis*) Di Kabupaten Enrekang. Makassar : Universitas Hasanuddin
- William, D. A., Ritchie S. R., Roberts S. A., Coombs G. W., Thomas M. G., Hannaford O., Baker M. G., Lennon D., Fraser J. D. (2014). Clinical and Molecular Epidemiology of community-onset invasive *Staphylococcus aureus* infection in New Zealand children, *Epidemiol. Infect* (2014), 142, 1713-1721, [http:// doi.org/s0950268814000053](http://doi.org/s0950268814000053)

©UKPDW