

Identifikasi dan Karakterisasi Resistensi Antibiotik Terduga *Staphylococcus aureus* pada Susu Mastitis Subklinis asal Sapi Perah di Kelompok Ternak Sedyo Mulyo, Pakem, Sleman Yogyakarta

Identification and Characterization Antibiotic Resistance of presumptive *Staphylococcus aureus* in Subclinical Mastitis Milk from Dairy Cows in Sedyo Mulyo Farm Pakem, Sleman, Yogyakarta

Fatkhanuddin Aziz^{1)*}, Fajar B. Lestari¹⁾, Soedarmanto Indarjulianto²⁾, Fauziah Fitriana¹⁾

¹⁾Prodi Sarjana Terapan Teknologi Veteriner, Departemen Teknologi Hayati dan Veteriner, Sekolah Vokasi, Jl. Yacaranda, Sekip Unit II, Bulaksumur, Caturtunggal, UGM, Yogyakarta.

²⁾Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Jl. Fauna No. 2, Depok, Caturtunggal, UGM, Yogyakarta.

Article history
Received: May 31, 2021;
Accepted: Apr 19, 2022

* Corresponding author:
E-mail:
fatkhanuddin.aziz@mail.ugm.ac.id

DOI:
[10.46549/jipvet.v12i1.226](https://doi.org/10.46549/jipvet.v12i1.226)



Abstract

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is one of the bacteria that causing mastitis, implicate economic losses in dairy farm. Treatment of *S. aureus* is known to be difficult because of the mismatch of choosing the right type of antibiotic and the nature of resistance that is easily developed. The purpose of this study were to identified and characterized the antibiotic resistance of *S. aureus* in dairy cows subclinical mastitis from Sedyo Mulyo farm, Pakem, Sleman, Yogyakarta. Bacterial identification of *S. aureus* from 40 milk positive CMT test was carried out through bacterial culture with MSA test, coagulase, catalase, Gram staining, Voges-Proskauer test, and colony morphology on 5% sheep blood agar plates. Identification of *S. aureus* resistance to several antibiotic were carried out by the Kirby-Bauer method. The results showed that 26 of 40 milk samples tested were presumptive identified for *S. aureus*. The percentage of antibiotics resistance to cefixim, ampicillin, oxytetracycline, penicillin G, erythromycin, and oxacillin, were 100%, 96%, 61.5%, 38.4%, 23%, and 2% respectively. Whereas all presumptive *S. aureus* isolates still 100% sensitive to ciprofloxacin. Monitoring and evaluation of the presence of *S. aureus* bacteria in subclinical mastitis milk needs to be done to prevent the potential for developing mastitis severity and antibiotic resistance.

Keywords: Antibiotic resistance; *S. Aureus*; Subclinical mastitis

Abstrak

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) adalah salah satu bakteri penyebab mastitis yang menyebabkan kerugian ekonomi pada peternakan sapi perah. Pengobatan terhadap *S. aureus* menjadi sulit dilakukan terutama karena ketidaksesuaian pemilihan jenis antibiotik yang tepat dan sifat resistensi terhadap antibiotik yang mudah berkembang. Tujuan penelitian adalah mengidentifikasi dan mengetahui karakterisasi resistensi antibiotik *S. aureus* pada susu mastitis subklinis dari sapi perah di kelompok ternak Sedyo Mulyo, Pakem, Sleman Yogyakarta. Identifikasi *S. aureus* dari 40 susu yang positif uji *California Mastitis Test* (CMT) dilakukan melalui kultur bakteri dengan uji Mannitol Salt Agar (MSA), koagulase, katalase, pengecatan Gram, uji Voges-Proskauer, dan morfologi koloni pada pelat agar darah domba 5%. Identifikasi resistensi *S. aureus* terhadap berbagai macam antibiotik dilakukan dengan metode Kirby-Bauer. Hasil penelitian diketahui 65% (26/40) sampel susu positif uji CMT terisolasi terduga *S. aureus*. Persentase resistensi pada antibiotik secara berurutan cefixim, ampisilin, oksitetrasiklin,

penisilin G, eritromisin, dan oxacillin yaitu 100%, 96%, 61.5%, 38.4%, 23%, dan 2%. Semua *S. aureus* yang diuji masih 100% peka terhadap ciprofloxacin. Lebih dari 50% susu mastitis subklinis pada penelitian ini mengandung terduga bakteri *S. aureus*, diketahui mayoritas isolat tersebut menunjukkan telah resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik. Monitoring dan evaluasi keberadaan bakteri *S. aureus* pada susu mastitis subklinis perlu dilakukan untuk mencegah potensi berkembangnya derajat keparahan mastitis dan resistensi antibiotik.

Kata Kunci: Mastitis subklinis; Resistensi antibiotik; *S. aureus*.

PENDAHULUAN

Data statistik peternakan dan kesehatan hewan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian tahun 2021 (Badan Pusat Statistik, 2021) melaporkan total populasi sapi perah di Yogyakarta sebanyak 3.468 ekor dengan produksi susu segar sebesar 5.306,40 ton. Data populasi dan produksi susu tersebut menunjukkan besarnya potensi ekonomi peternakan ternak perah di Yogyakarta.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif penyebab mastitis pada ternak perah. Kasus mastitis pada sapi perah merupakan tantangan global, hampir terjadi di seluruh peternakan dunia (Bekele et al., 2019). Kerugian ekonomi yang ditimbulkan oleh mastitis berupa penurunan produksi susu, masa laktasi yang lebih pendek, bertambahnya biaya pengobatan dan meningkatnya angka afkir (*culling*) pada mastitis klinis yang parah. Kasus mastitis tipe subklinis umum dilaporkan terjadi di lapangan (Abd-Elrahman, 2013). Mastitis subklinis secara luas dapat dideteksi dengan mudah melalui uji CMT. Hutabarat et al (1983) melaporkan penurunan produksi susu per kuartir akibat mastitis subklinis ringan di daerah peternakan sapi perah kabupaten Boyolali tahun 1983 sebesar 19,0% per hari, sedangkan pada infeksi berat penurunan produksi susu dapat mencapai 36,0% per hari. Analisa ekonomi kasus mastitis pernah dilakukan Suryowardojo et al (Suryowardojo et al., 2008) bahwa di peternakan sapi perah daerah Pasuruan, mastitis dapat menurunkan produksi susu sebesar 28,4% - 53,5%.

Bakteri *S. aureus* tidak hanya menyebabkan mastitis pada sapi, namun juga berpotensi sebagai sumber penyebab keracunan makanan pada manusia (*food poisoning disease agent*) (Grispoldi et al., 2019). *S. aureus* diketahui memproduksi berbagai jenis

enterotoksin di dalam susu yang stabil pada proses pemanasan dan berbagai olahan produk susu. Keracunan makanan oleh kontaminasi enterotoksin bakteri *S. aureus* dalam susu dan olahannya telah dilaporkan di berbagai negara seperti Brazil, Swiss, dan Norwegia (Verraes et al., 2015). Pengobatan terhadap *S. aureus* pada kasus mastitis diketahui menjadi sulit dilakukan terutama karena ketidaksesuaian pemilihan jenis antibiotik di lapangan yang tepat dan sifat resistensi yang mudah berkembang (Gomes & Henriques, 2016; Roberson, 2012; Nuraini et al., 2020). Resistensi bakteri *Staphylococcal* terhadap berbagai jenis antibiotik terutama golongan beta-laktam sangat berkembang cepat (El-Ashker et al., 2020). Resistensi yang terjadi pada golongan beta-laktam dikatalisasi oleh enzim penisilinase, bekerja dengan menghidrolisis ring beta-laktam struktur kimia penisilin. Gen penyandi enzim penisilinase terintegrasi di dalam plasmid, yang dapat ditransfer dengan cepat antar *Staphylococcus* (Bekele et al., 2019; El-Ashker et al., 2020). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan karakterisasi *S. aureus* dari susu mastitis yang positif uji CMT dari kandang kelompok ternak Sedyo Mulyo, Pakem, Sleman Yogyakarta yang mempunyai populasi sekitar 300 ekor sapi laktasi. Informasi prevalensi *S. aureus* dan karakter resistensi antibiotik isolat bakteri dari satu populasi tersebut, memberikan gambaran ancaman nyata *S. aureus* sebagai salah satu penyebab mastitis subklinis dan diharapkan bermanfaat dalam upaya pencegahan dan pengobatan kejadian mastitis subklinis sapi perah yang diakibatkan oleh *S. aureus*.

MATERI DAN METODE

Koleksi Sampel

Sampel susu segar dikoleksi dari peternakan sapi perah kelompok ternak Sedyo

Mulyo yang berada di wilayah Pakem, Sleman Yogyakarta. Sampel diambil dengan cara aseptis (1 kuartir tiap ekor), puting dibersihkan dengan alkohol 70% sebelum susu diperah, kemudian dilakukan uji CMT menggunakan reagen Bovivet CMT (Jørgen Kruuse,

Denmark) (Hussein, 2012). Sebanyak empat puluh sampel susu yang positif uji CMT dengan penampakan seperti pada kriteria skor +, ++ dan +++ (Gambar 1), kemudian ditampung pada tabung konikal 15 ml steril untuk dilakukan uji mikrobiologi.



Gambar 1. Skoring uji CMT. Sampel susu dan reagen CMT dicampurkan di dalam *paddle pad* dengan rasio volume 1:1 dan kemudian campuran dihomogenkan. Tanda (–) menunjukkan tidak ada pengentalan, (+) sedikit pengentalan, (++) pengentalan terlihat lebih jelas, dan (+++) pengentalan pada seluruh campuran. Ket: Kriteria +++ (positif 3) tidak ditemukan pada penelitian ini.

Isolasi dan identifikasi bakteri *S. aureus*.

Isolasi bakteri dan identifikasi fenotipik *S. aureus* mengikuti metode yang dilakukan sebelumnya (Aziz, 2013). Sampel susu dikultur pada medium pelat agar darah domba 5% (PAD), medium selektif MSA, kemudian dilakukan identifikasi melalui pengecatan Gram, uji katalase, koagulase, uji Voges-Proskauer (VP), dan morfologi koloni pada PAD kembali sehingga diperoleh koloni tunggal dan seragam. Pengamatan pertumbuhan bakteri dilakukan setelah media di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Isolat *S. aureus* dengan kode *American Type Culture Cell* (ATCC) 25923 milik Balai Besar Veteriner Wates, Kementerian Pertanian RI digunakan sebagai kontrol positif untuk identifikasi mikrobiologi.

Uji resistensi antibiotik

Uji resistensi terhadap antibiotik didasarkan pada metode *Kirby-Bauer* terhadap cefixim (5µg), ampicilin (20µg), oksitetrasiklin (30µg), penisilin G (10U), eritromisin (15µg), oxacillin (5µg) dan ciprofloxacin (10µg)

(Oxoid™ *Antimicrobial Susceptibility Disks*, UK.) sesuai penelitian sebelumnya (Jamali, 2014; Sharma *et al.*, 2015; Ren, 2020; Salaudin, 2020). Isolat terlebih dahulu ditanam pada media kaldu Brain Heart Infusion (BD Microbiology System, MD, USA) dan di inkubasikan semalam pada suhu 37°C, setelah itu diambil 100µL kaldu (konsentrasi standar 0,5 Mc Farland) dan disebar pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Sigma Aldrich, Darmstadt, Germany) dengan spatula segitiga. *sensitivity disc* (Oxoid™ *Antimicrobial Susceptibility Disks*, UK.) diletakkan di atas permukaan media MHA dengan menggunakan *disc dispenser*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona terang yang terbentuk diukur (mm) dan dibandingkan dengan zona standar sesuai referensi dari *Routine internal quality control as recommended by EUCAST, Version 3.1.* (Matuschek *et al.*, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi mastitis subklinis dan isolasi *S. aureus*

Tabel 1. Isolasi dan identifikasi terduga *S. aureus*.

No	Skor CMT	Kode isolat	MSA (1)	MSA (2)	PAD	Katalase	Koagulase	VP
1	++	SM 1	+	+	Non	+	+	+
2	+	SM 2	+	+	Non	+	-	-
3	++	SM 3	+	+	Non	+	+	+
4	++	SM 4	+	+	Non	+	+	+
5	++	SM 5	+	+	Non	+	+	+
6	+	SM 6	+	+	Non	+	+	+
7	+	SM 7	+	+	Non	+	-	-
8	++	SM 8	-	-	-	-	-	-
9	++	SM 9	+	+	Non	+	+	+
10	+	SM 10	+	+	Non	+	+	+
11	++	SM 11	+	+	Non	+	+	+
12	+	SM 12	+	+	Non	+	+	+
13	++	SM 13	-	-	-	-	-	-
14	++	SM 14	-	-	-	-	-	-
15	+	SM 15	+	+	Non	+	+	+
16	++	SM 16	+	+	Non	+	+	+
17	+	SM 17	-	-	-	-	-	-
18	++	SM 18	+	+	Non	+	+	+
19	++	SM 19	+	+	Non	+	+	+
20	++	SM 20	-	-	-	-	-	-
21	++	SM 21	+	+	Non	+	+	+
22	++	SM 22	+	+	Non	+	+	+
23	++	SM 23	+	+	Non	+	+	+
24	+	SM 24	+	+	Non	+	+	-
25	++	SM 25	+	+	ß	+	+	+
26	+	SM 26	+	+	ß	+	+	+
27	++	SM 27	+	+	Non	+	+	+
28	++	SM 28	+	+	Non	+	+	+
29	++	SM 29	+	-	-	+	-	-
30	++	SM 30	+	+	Non	+	+	+
31	++	SM 31	-	-	-	-	-	-
32	++	SM 32	+	+	Non	+	+	+
33	++	SM 33	+	+	Non	+	-	-
34	+	SM 34	-	-	-	-	-	-
35	++	SM 35	+	+	Non	+	-	-
36	++	SM 36	+	+	Non	+	+	+
37	++	SM 37	+	+	Non	+	-	-
38	+	SM 38	+	+	Non	+	+	+
39	++	SM 39	+	+	Non	+	+	+
40	++	SM 40	+	+	Non	+	+	+
Kontrol positif		ATCC	+	+	ß	+	+	+

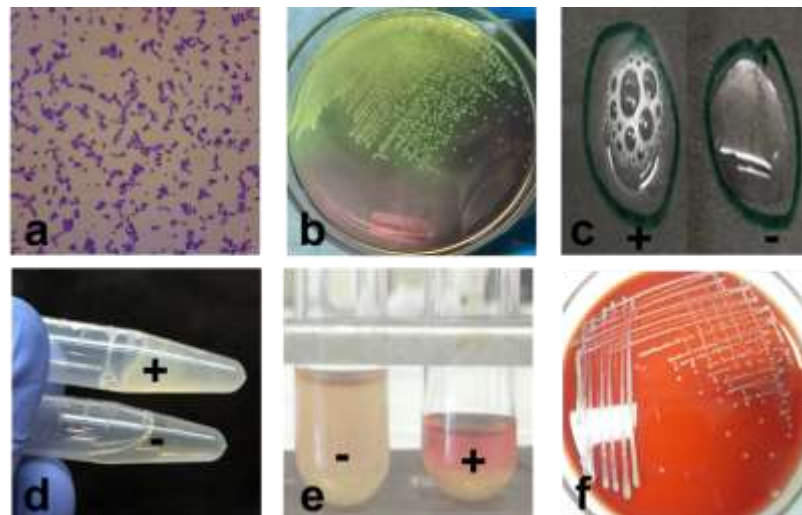
Keterangan: Tanda abu-abu menunjukkan *S. aureus*; Non (tidak menghemolisa); ß (Beta hemolisa).

Hasil penelitian menunjukkan 65% (26/40) sampel susu yang positif uji CMT terisolasi terduga *S. aureus* berdasarkan uji mikrobiologi. Pada penelitian ini, semua sampel yang dikoleksi hanya ditemukan skor mastitis + dan ++ seperti yang terlihat pada Gambar 1 dan Tabel 1, sedangkan skor +++ tidak ditemukan. Berdasarkan skor CMT, diketahui isolate terduga *S. aureus* terdeteksi pada sampel susu dengan skor CMT + sebesar 54% (6/11) dan skor CMT ++ sebesar 69% (20/29). Berdasarkan hasil identifikasi mikrobiologi pada Gambar 2 dan Tabel 1, diketahui 26 isolat

dan isolat ATCC sebagai kontrol positif *S. aureus* menunjukkan karakter Gram positif (Gambar 2a), memfermentasi manitol pada MSA (Gambar 2b), positif uji katalase (Gambar 2c), positif uji koagulase (Gambar 2d), positif uji VP (Gambar 2e) dan koloni putih kompak pada media PAD (Gambar 2f). Menurut Budin et al. (2012), Girmay et al. (2020) dan Salauddin et al. (2020), *S. aureus* mempunyai karakter mengikat zat warna kristal violet pada pengecatan Gram, mampu menggunakan mannitol sebagai sumber karbohidrat, tumbuh pada media agar dengan 7,5% NaCl,

menghidrolisis H_2O_2 dengan enzim katalase yang dimiliki, mengkoagulasi plasma kelinci, memproduksi asetilmetil karbinol dan morfologi koloni bulat dan berwarna putih atau kuning pada media pelat agar darah. Sedangkan kemampuan hemolisa *S. aureus* pada pelat agar darah dapat berbeda di setiap isolatnya, dipengaruhi oleh ekspresi gen *hla* dan *hly*. Dua puluh enam isolat tersebut memperlihatkan karakter yang sama dengan kontrol positif yang

digunakan dan sesuai dengan referensi identifikasi mikrobiologi untuk *S. aureus*. Meskipun bakteri *S. aureus* dapat diidentifikasi melalui uji mikrobiologi, namun untuk memastikan spesies yang spesifik, perlu dilakukan uji molekuler yang umum pada identifikasi *S. aureus* dengan target gen 23S rDNA atau thermonuclease (*nuc*) (Yu *et al.*, 2012; Nazari *et al.*, 2014).



Gambar 2. Uji mikrobiologi *S. aureus*. Gram positif di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000X (a), Fermentasi mannitol pada media MSA (b), Uji katalase (c), Uji koagulasi (d), uji VP (e), Koloni putih kompak pada media PAD (f). Hasil uji negatif atau positif, ditunjukkan dengan simbol (-/+) pada gambar.

Pada penelitian ini diketahui 65% susu mastitis subklinis teridentifikasi terduga *S. aureus*, tingginya prevalensi tersebut juga dilaporkan oleh Ren *et al.* (2020) yang memperlihatkan 77% susu mastitis subklinis yang diteliti di China teridentifikasi *S. aureus*. Penelitian Ewida dan Al-Hosary (2020) bahkan menunjukkan prevalensi *S. aureus* yang sangat tinggi pada susu mastitis subklinis di Mesir yaitu sebesar 95%. Hal tersebut menunjukkan sebagai ancaman nyata bagi upaya peningkatan

produksi susu yang optimal dan berkualitas, khususnya pada satu populasi ternak. Potensi berkembangnya mastitis subklinis menjadi penting, mengingat sulitnya pencegahan dan pengobatan mastitis terutama yang berubah menjadi fase klinis, di mana banyak berakhir dengan afkir (Roberson, 2012; Putz *et al.*, 2020).

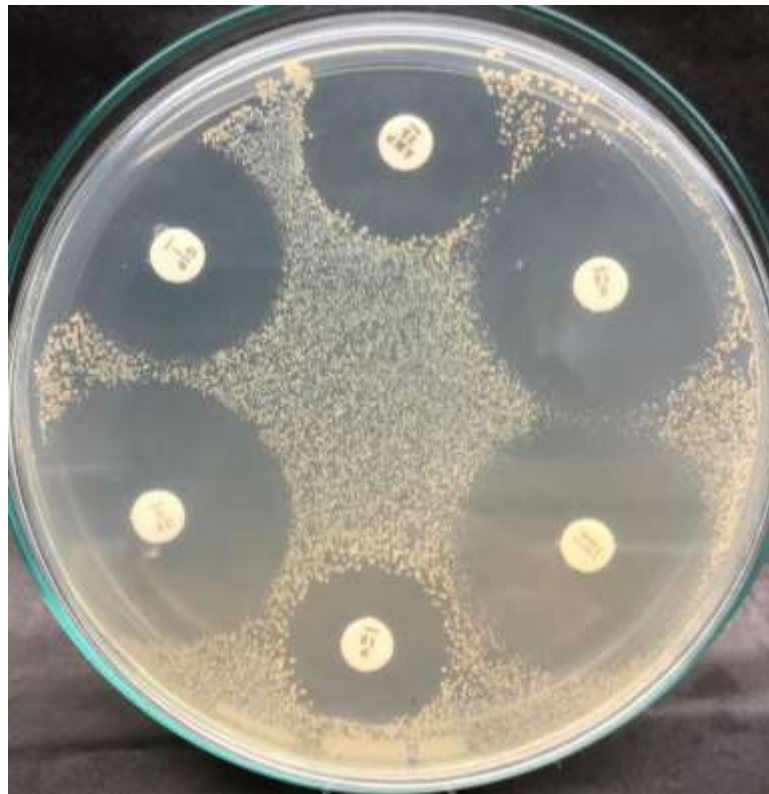
Determinasi resistensi antibiotik

Tabel 2. Data uji resistensi 26 isolat terduga *S. aureus*.

No	Antibiotik	Resistensi (%)
1	Cefixim	100,0
2	Ampisilin	96,0
3	Oksitetrasiklin	61,5
4	Penisilin G	38,4
5	Eritromisin	23,0
6	Oxacillin	2,0
7	Ciprofloxacin	0,0

Pengobatan mastitis menggunakan berbagai macam antibiotik telah dikenal luas di seluruh dunia (Gomes & Henriques, 2016). Namun permasalahan yang terjadi adalah munculnya sifat resistensi sebagai mekanisme adaptasi bakteri terhadap ancaman dari lingkungan ekstraseluler (Petersson-Wolfe *et al.*, 2010; Roberson, 2012). Resistensi *S. aureus* asal susu mastitis terhadap golongan penisilin, tetrasiklin dan cefixim telah dilaporkan sebelumnya (Sharma *et al.*, 2015; Girmay *et al.*, 2020; Salauddin *et al.*, 2020). Persentase determinasi sifat resistensi pada 26 isolat

terduga *S. aureus* tersaji pada Tabel 2. Gambar 3 menunjukkan salah satu hasil uji Kirby-Bauer pada penelitian ini. Hasil identifikasi resistensi diketahui persentase resistensi pada antibiotik secara berurutan cefixim, ampicilin, oksitetrasiklin, penisilin G, eritromisin, dan oxacillin yaitu 100%, 96%, 61.5%, 38.4%, 23%, dan 2%. Sedangkan 26 isolat yang diuji tersebut masih 100% peka terhadap ciprofloxacin. Hal ini menunjukkan bahwa terduga *S. aureus* asal susu mastitis yang diuji, telah menunjukkan sifat resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik.



Gambar 3. Uji resistensi antibiotik menggunakan metode Kirby-Bauer. Bakteri dengan konsentrasi 0.5 Mc Farland dalam biak cair disebar diatas medium MHA menggunakan spreader, kemudian disk antibiotik cefixim, ampicilin, oksitetrasiklin, penisilin G, eritromisin, oxacillin dan ciprofloxacin diletakkan diatas agar menggunakan pinset steril. Diameter zona terang dibaca setelah inkubasi 37°C selama 24 jam. Ket: disk antibiotik cefixim tidak ditampilkan pada gambar ini.

Pemilihan antibiotik yang sama secara berulang-ulang menyebabkan resistensi bakteri penyebab mastitis di dalam ambing. Penggunaan luas antibiotik golongan penisilin pada pengobatan mastitis di China dan Turki telah memicu resistensi *S. aureus* (Ren *et al.*, 2020). Tingginya resistensi isolat *S. aureus* terhadap cefixim, ampicilin, oksitetrasiklin dan eritromisin pada penelitian ini juga telah dilaporkan di negara lain (Sharma *et al.*, 2015; Sudhanthiramani *et al.*, 2015; Girmay *et al.*,

2020; Salauddin *et al.*, 2020). Perkembangan sifat resistensi terutama pada golongan penisilin guna pengobatan infeksi bakteri *Staphylococcal* telah dilaporkan berkembang cepat (Sharma *et al.*, 2015; Putz *et al.*, 2020). Beberapa penelitian menunjukkan adanya mutasi terutama pada gen penyandi *penicillin binding protein*, sehingga memicu sifat resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik Beta-laktam (Roberson, 2012). Pada penelitian ini, terlihat tingginya persentase resistensi terhadap

ampisilin yaitu 96%, sedangkan untuk penisilin G 38,4%. Alternatif dari antibiotik golongan Beta-laktam adalah penisilin semisintetis seperti methicillin, nafcillin, oxacillin dan dicloxacillin. Antibiotik tersebut diketahui resisten beta-laktamase yang diproduksi oleh beberapa strain *S. aureus*. Namun permasalahan selanjutnya adalah *Staphylococcus* juga mampu beradaptasi dengan baik dan resisten terhadap antibiotik semisintetis tersebut. Sedangkan pada penelitian ini, meskipun masih kecil persentasenya (2%), namun perkembangan sifat resistensi terhadap oxacillin telah terlihat (Tabel 2). *Staphylococcus aureus* yang mempunyai sifat resisten terhadap golongan betalaktam semisintetis tersebut dikenal sebagai *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Zayda *et al.*, 2020).

Kontras dengan berbagai jenis antibiotik di atas, seluruh isolat terduga *S. aureus* pada penelitian ini masih sensitif terhadap ciprofloxacin. Antibiotik ciprofloxacin juga dilaporkan efektif pada *S. aureus* asal susu mastitis di Iran (Jamali *et al.*, 2014) dan Pakistan (Javed *et al.*, 2021). Meskipun antibiotik ciprofloxacin dapat direkomendasikan untuk digunakan sebagai pilihan utama pengobatan mastitis, namun potensi resistensi dalam penggunaan jangka panjang juga perlu diperhatikan. Hendaknya petugas kesehatan hewan perlu melakukan evaluasi penggunaan antibiotik di lapangan guna mengetahui kejadian resistensi yang terjadi. Hal tersebut berguna dalam menentukan jenis antibiotik yang akan digunakan dan menjadi evaluasi terhadap langkah pengobatan yang telah dilakukan.

KESIMPULAN

Prevalensi terduga *S. aureus* pada susu mastitis subklinis di kelompok ternak Sedyo Mulyo di Pakem, Sleman, Yogyakarta adalah 65%. Isolat-isolat tersebut diketahui resisten terhadap cefixim (100%), ampicillin (96%), oksitetrasiklin (61,5%), namun masih peka terhadap ciprofloxacin.

DAFTAR PUSTAKA

Abd-Elrahman AH. 2013. 'Mastitis in housed dairy buffaloes: incidence, etiology,

clinical finding, antimicrobial sensitivity and different medical treatment against *E. coli* mastitis', *Life Science Journal*, 10(1), hal. 531-538.

Aziz F. 2013. 'Determinasi Genetik *Staphylococcus aureus* Sapi Perah di Baturraden dan Pengembangan Deteksi Stafilocokal Mastitis Langsung dari Susu Segar dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)', Thesis, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Badan Pusat Statistik. 2021. 'Populasi Sapi Perah menurut Provinsi (Ekor), 2019-2021', Badan Pusat Statistik. Jakarta.

Badan Pusat Statistik. 2021. 'Produksi Susu Segar menurut Provinsi (Ton), 2019-2021', Badan Pusat Statistik. Jakarta.

Bekele T, Lakew M, Terefe G, Koran T, Olani A, Yimesgen L, Tamiru M dan Demissie T. 2019. 'Study on bovine mastitis with isolation of bacterial and fungal causal agents and assessing antimicrobial resistance patterns of isolated *Staphylococcus* species in and around Sebeta town, Ethiopia', *African Journal of Microbiology Research*, 13(1), hal. 23-32. doi:10.5897/AJMR2018.8909.

Budin G, Chung HJ, Lee H & Weissleder R. 2012. 'A magnetic Gram stain for bacterial detection', *Angewandte Chemie*, 124(31), hal. 7872-7875.

El-Ashker M, Gwida M, Monecke S, El-Gohary F, Ehrlich R, Elsayed M, Akinduti P, El-Fateh M. dan Maurischat S. 2020. 'Antimicrobial resistance pattern and virulence profile of *S. aureus* isolated from household cattle and buffalo with mastitis in Egypt', *Veterinary Microbiology*, 240:108535. doi:10.1016/j.vetmic.2019.108535

Ewida RM dan Al-Hosary AA. 2020. 'Prevalence of enterotoxins and other virulence genes of *Staphylococcus aureus* caused subclinical mastitis in dairy cows', *Veterinary World*, 13(6), hal. 1193-1198. doi: 10.14202/vetworld.2020.1193-1198

Girmay W, Gugsu G, Taddele H, Tsegaye Y, Awol N, Ahmed M dan Feleke A. 2020.

- 'Isolation and Identification of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Milk in Shire Dairy Farms, Tigray, Ethiopia'. *Veterinary Medicine International*. doi: 10.1155/2020/8833973.
- Gomes F & Henriques M. 2016. 'Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches', *Current microbiology*, 72(4), 377-382.
- Grispoldi L, Massetti L, Sechi P, Iulietto MF, Ceccarelli M, Karama M, Popescu PA, Pandolfi F & Cenci-Goga BT. 2019. 'Characterization of enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cows.', *Journal of dairy science*, 102(2), hal. 1059-1065. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15373>
- Hu Y, Xie Y, Tang J, & Shi X. 2012. 'Comparative expression analysis of two thermostable nuclease genes in *Staphylococcus aureus*', *Foodborne pathogens and disease*, 9(3), hal. 265-271. doi: <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.1033>.
- Hussein SA. 2012. 'Prevalence and bacterial etiology of subclinical mastitis in dairy cows in Al Sulaimaniyah district', *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences*. 3(1). hal. 190-203.
- Hutabarat T, Witono S dan Unruh D. 1983. 'Problematisasi mastitis pada peternakan sapi perah rakyat di Kabupaten Boyolali', *Laporan tahunan hasil penyidikan penyakit hewan di Indonesia periode 2*, hal. 34-44.
- Jamali H, Radmehr B dan Ismail S. 2014. 'Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis', *Journal of dairy science*, 97(4), hal. 2226-2230. doi: 10.3168/jds.2013-7509.
- Javed MU, Ijaz M, Fatima Z, Anjum AA, Aqib AI, Ali MM, Rehman A, Ahmed A & Ghaffar A. 2021. 'Frequency and Antimicrobial Susceptibility of Methicillin and Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Bovine Milk', *Pakistan Veterinary Journal*, 41(4). doi: 10.29261/pakvetj/2021.060.
- Matuschek E, Brown DF & Kahlmeter G. 2014. 'Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories', *Clinical microbiology and infection*, 20(4), hal. O255-O266.
- Nazari R, Godarzi H, Baghi FR & Moeinrad M. 2014. 'Enterotoxin gene profiles among *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk', *Iranian journal of veterinary research*, 15(4), hal. 409-412.
- Nuraini DM, Andityas M, Paramarta A, Najib NR dan Wijayanti AD. 2020. 'Isolasi dan identifikasi *Escherichia coli* dari Sumber Air Minum Kandang Broiler serta Uji Aktivitas Antibakteri Lidah Buaya', *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science)*, 10(2), hal. 106-112. doi: 10.46549/jipvet.v10i2.116.
- Putz EJ, Palmer MV, Ma H, Casas E, Reinhardt TA dan Lippolis JD. 2020. 'Case report: characterization of a persistent, treatment-resistant, novel *Staphylococcus aureus* infection causing chronic mastitis in a Holstein dairy cow', *BMC Veterinary Research*, 16, hal. 1-8. doi: 10.1186/s12917-020-02528-8.
- Ren Q, Liao G, Wu Z, Lv J dan Chen W. 2020. 'Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from subclinical bovine mastitis in southern Xinjiang, China', *Journal of Dairy Science*, 103(4), hal. 3368-3380. doi:10.3168/jds.2019-17420
- Roberson JR. 2012. 'Treatment of clinical mastitis', *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 28(2), hal. 271-288. doi: 10.1016/j.cvfa.2012.03.011.
- Salaudin M, Akter MR, Hossain M, Nazir K, Noreddin A dan El Zowalaty ME. 2020. 'Molecular Detection of Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis Milk in Bangladesh', *Veterinary sciences*, 7(2), hal 36. doi: 10.3390/vetsci7020036.
- Sharma L, Verma AK, Kumar A, Rahat A, Neha, Nigam R. 2015. 'Incidence and

- pattern of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical mastitis in cattle and buffaloes' *Asian Journal of Animal Sciences*, 9(3), 100-109. DOI: 10.3923/ajas.2015.100.109.
- Sudhanthiramani S, Swetha CS & Bharathy S. 2015. 'Prevalence of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* from raw milk samples collected from the local vendors in the region of Tirupathi, India', *Veterinary world*, 8(4), 478.
- Surjowardojo P, Suyadi S dan Hakim L. 2008. 'Ekspresi Produksi Susu Pada Sapi Perah Mastitis', *Journal of Tropical Animal Production*, 9(2): 1-11.
- Verraes C, Vlaemynck G, Van Weyenberg S, De Zutter L, Daube G, Sindic M, Uyttendaele M dan Herman L. 2015. 'A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk', *International Dairy Journal*, 50, hal. 32-44. doi: 10.1016/j.idairyj.2015.05.011.
- Zayda MG, Masuda Y, Hammad AM, Honjoh K-i, Elbagory AM dan Miyamoto T. 2020. 'Molecular characterisation of methicillin-resistant (MRSA) and methicillin-susceptible (MSSA) *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis and Egyptian raw milk cheese', *International Dairy Journal*, 104, hal 104646. doi: 10.1016/j.idairyj.2020.104646.