

Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Sapi Mastitis Subklinis di Pangalengan, Jawa Barat

Isolation and Identification of Staphylococcus aureus from Milk Dairy Cow with Subclinical Mastitis in Pangalengan, West Java

Hemalya Sylvany¹, Pranyata Tangguh Waskita^{1*}, Sarasati Windria^{1,2}

¹Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

²Departemen Ilmu Kedokteran Dasar, Divisi Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

*Corresponding author; Email: pranyata0913@gmail.com

Naskah diterima: 18 Juli 2023, direvisi: 28 Januari 2025, disetujui: 20 November 2025

Abstract

Cow's milk is the main product produced by dairy cows. The various contents of cow's milk make milk a good source of nutrition for the body's metabolism. The high demand for milk in Indonesia has not been fulfilled because of the health aspects of cows that have mastitis. *Staphylococcus aureus* is one of the pathogens that cause subclinical mastitis in cattle. The purpose of this study was to determine *Staphylococcus aureus* contamination in milk samples of cows suffering from subclinical mastitis in Pangalengan. This research was conducted using a qualitative descriptive method, using 48 samples of mastitis dairy cows with CMT test results $\geq +2$. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* were carried out through culture methods on Blood Agar Plate (BAP) media, Mannitol Salt Agar (MSA), Gram staining, catalase test, DNase test, and coagulase test. Of the 48 samples, there were 17 isolates containing *Staphylococcus aureus*. 17 isolates produced hemolysin on blood agar, fermented mannitol, Gram-positive cocci, catalase-positive, coagulase-positive, and DNase-positive.

Keywords: cow's milk; *Staphylococcus aureus*; subclinical mastitis

Abstrak

Susu sapi merupakan produk utama yang dihasilkan sapi perah. Kandungan susu sapi yang beragam, menjadikan susu sebagai sumber nutrisi yang baik untuk metabolisme tubuh. Tingginya permintaan susu di Indonesia belum terpenuhi karena adanya aspek kesehatan dari sapi yang mengalami mastitis. *Staphylococcus aureus* adalah salah satu patogen yang menyebabkan mastitis subklinis pada sapi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui cemaran *Staphylococcus aureus* pada sampel susu sapi yang menderita mastitis subklinis di Pangalengan. Penelitian ini dilakukan dengan metode deskriptif kualitatif, menggunakan 48 sampel susu sapi perah mastitis dengan hasil uji CMT $\geq +2$. Isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* dilakukan melalui metode kultur pada media *Blood Agar Plate* (BAP), *Mannitol Salt Agar* (MSA), pewarnaan Gram, uji katalase, uji DNase, serta uji koagulase. Dari 48 sampel terdapat 17 isolat yang mengandung *Staphylococcus aureus*. 17 isolat menghasilkan hemolisin pada *blood agar*, memfermentasikan mannitol, pewarnaan Gram positif kokus, katalase positif, koagulase positif dan DNase positif.

Kata kunci: mastitis subklinis; susu sapi; *Staphylococcus aureus*.

Pendahuluan

Susu sapi merupakan produk utama yang dihasilkan sapi perah. Susu sapi mengandung air sebanyak 87,2g/100g susu, protein sebanyak 4g/100g susu, lemak 3g/100g susu, serta laktosa 5g/100g susu (Muehlhoff, *et al.*, 2013). Susu sapi mengandung β -laktoglobulin yang tidak dimiliki ASI (El-Agamy, 2007). Kandungan susu sapi yang beragam, menjadikan susu sebagai sumber nutrisi yang baik untuk metabolisme tubuh. Kandungan gizi tersebut yang membuat masyarakat Indonesia memiliki permintaan susu yang cukup tinggi untuk memenuhi kebutuhan nutrisi dalam tubuhnya (Anindita and Soyi, 2017). Menurut BPS pada tahun (2021), kebutuhan susu sapi di Indonesia cukup tinggi yaitu sebanyak 4.385.730ton susu, namun belum dapat terpenuhi karena produksi susu sapi dalam negeri hanya 107.481,19ton susu (BPS, 2023). Tingginya permintaan susu di Indonesia belum terpenuhi karena adanya aspek kesehatan dari sapi yang mengalami mastitis sehingga membuat kualitas dan produksi susu sapi yang rendah (Namira *et al.*, 2022).

Mastitis adalah penyakit yang ditandai dengan adanya inflamasi pada kelenjar ambing disertai dengan perubahan fisikokimia susu dan kondisi patologis pada kelenjar ambing (Namira *et al.*, 2022). Mastitis terdiri dari dua jenis yaitu mastitis klinis dan subklinis. Mastitis menyebabkan kerugian yang besar pada peternakan sapi, karena sel-sel epitel penghasil susu dan jaringan ikat diantara sel-sel rusak sehingga membuat kualitas susu menjadi buruk, produksi susu berkurang, meningkatnya biaya untuk perawatan sapi serta adanya mikroorganisme patogen (Kumar, *et al.*, 2010). Angka kejadian mastitis di Indonesia sangat tinggi yaitu sekitar 97-98% mastitis subklinis serta 2-3% mastitis klinis yang terdeteksi (Nisa *et al.*, 2019). Prevalensi kejadian mastitis subklinis pada sapi tahun 2018 sebesar 67,5% di Jawa Barat (Susanty *et al.*, 2018).

Mikroorganisme patogen yang menjadi penyebab mastitis secara umum yaitu *Streptococcus agalactiae*, *S. disgalactiae*, *S. uberis*, *S. zooepidermicus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* dan *Pseudomonas aeruginosa* serta *Mycoplasma sp.*, *Candida sp.*, *Geotrichum sp.* dan *Nocardia*

sp. pada kasus mastitis mikotik (Riyanto *et al.*, 2016). Mastitis subklinis disebabkan oleh berbagai bakteri yaitu *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *coagulase-negative Staphylococci* (CNS) (Argaw, 2016; Kaczorek-Lukowska *et al.*, 2022) dan penyakitnya bersifat menahun (Herlina *et al.*, 2015).

Mastitis subklinis biasanya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* di berbagai negara berbeda seperti Afrika, Polandia dan negara lainnya (Argaw, 2016; Kaczorek-Lukowska *et al.*, 2022). Diperkuat oleh penelitian Waskita *et al* pada tahun 2020 bahwa *Staphylococcus aureus* menjadi salah satu penyebab mastitis yang menunjukkan adanya ancaman terhadap peternakan sapi perah dan potensi resistensi terhadap antibiotik di wilayah kerja KPBS Pangalengan yang berada di Kabupaten Bandung (Waskita *et al.*, 2020). *Staphylococcus aureus* yang menginfeksi sapi sulit untuk diobati karena kemampuannya dalam memproduksi biofilm, racun atau berbagai enzim yang dapat merusak area infeksi (Kaczorek-Lukowska *et al.*, 2022). Mastitis subklinis tidak menampilkan kelainan fisik susu maupun ambing. Mastitis subklinis menyebabkan kerugian ekonomi pada industri susu, susu yang dihasilkan berkurang dan kualitas susu pun buruk (Alhussien and Dang, 2020). Mastitis subklinis pun menyebabkan penyimpanan umur susu menjadi lebih pendek dan risiko kebersihan susu karena mengandung organisme patogen meningkat (Alhussien and Dang, 2020). Mastitis subklinis hanya dapat dideteksi dengan cara tertentu seperti uji *California Mastitis Test* (CMT), uji kimia susu, dan kultur bakteri (Riyanto *et al.*, 2016).

Susu merupakan media pertumbuhan yang baik untuk bakteri, sehingga bakteri patogen seperti genus *Staphylococcus* dapat tumbuh baik dan menyebabkan mastitis pada sapi. Susu menjadi sumber utama penyebaran *Staphylococcus aureus* dalam produk susu. Proses pasteurisasi yang tidak sempurna dapat menyebabkan *food borne disease* pada manusia dan menjadi penyebab keracunan karena kemampuan *Staphylococcus* dalam menghasilkan enterotoksin (Aziz *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian di atas, mastitis subklinis masih menjadi tantangan yang besar

untuk peternak, dokter hewan dan berbagai pihak lain yang terlibat. Metode yang tepat diaplikasikan dalam mendeteksi *Staphylococcus aureus* dari susu sapi yang mengalami mastitis adalah dengan mengisolasi dan mengidentifikasi pada media selektif dan fenotipik untuk seleksi awal penentuan jenis bakteri yang menginfeksi. Metode ini diperlukan untuk mengontrol penyebaran penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus*, serta memberikan informasi penting sebagai tindakan preventif dan kontrol sumber keracunan pangan yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

Materi dan Metode

Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah susu sapi perah positif mastitis dengan hasil CMT $\geq +2$ dari peternak yang merupakan anggota dari KPBS Pangalengan.

Pengumpulan Sampel

Uji mastitis subklinis akan dilakukan dengan *California Mastitis Test* (CMT). Sampel susu diambil sebanyak 2 mL dan diletakkan pada *paddle*, lalu tambahkan 2 mL reagen CMT ke dalam sampel susu lalu diputar perlahan secara horizontal selama kurang lebih 10-15 detik. Selanjutnya, dilakukan pengamatan sampel susu, lalu tentukan skor mastitis berdasarkan tingkat konsistennya dengan memperhatikan perubahan pada kekentalan susunya. Tingkat kekentalan dapat ditentukan dari jumlah sel somatik yang terkandung pada susu, kemudian tentukan skor mastitis.

Sampel dikatakan (-) apabila susu bersifat cair, tidak ada endapan dan jumlah sel somatik 0-200.000/mL susu. Apabila terdapat sedikit endapan dikategorikan (+) atau lemah dengan jumlah sel somatik 400.000–1.500.000/mL susu. Endapan terlihat jelas dan terdapat gumpalan seperti lendir dikategorikan (++) dengan jumlah sel somatik sebanyak 800.000-5.000.000/mL susu. Hasil (+++) terbentuk perubahan cairan menjadi berstruktur seperti agar-agar dan memiliki jumlah sel somatik $>5.000.000$ /mL susu. Serta (++++), agar-agar yang terbentuk akan menyebabkan permukaan *paddle* menjadi cembung (Adriani, 2010; Chauhan and Agarwal, 2011).

Setelah itu, sampel yang dinyatakan positif mastitis subklinis disimpan pada tabung reaksi yang ditutup sebanyak 20 mL dan disimpan pada *coolbox* dengan suhu 5-10 °C yang berisikan *icepack* agar tidak ada bakteri yang berkembang biak hingga tiba di laboratorium.

Isolasi dan identifikasi secara fenotipik

BAP merupakan media differensial untuk mengetahui patogenitas dari *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan kemampuannya melisis sel darah merah, hasilnya dapat dilihat dengan adanya zona bening di sekitar koloni pada media *Blood Agar Plate*. Dilakukan isolasi bakteri dengan diambilnya 1 ose inokulum yang berasal dari susu sapi mastitis subklinis kemudian ditanam pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dan lakukan metode *T-Streak*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Dewi, 2013).

Mannitol Salt Agar merupakan media selektif diferensial untuk mengetahui kemampuan fermentasi mannitol pada *Staphylococcus sp.* Medium akan berubah warna, dari merah mejadi kuning keemasan yang menandakan bahwa susu yang diisolasi positif mengandung *Staphylococcus aureus* yang merupakan agen dari mastitis subklinis (Toelle and Lenda, 2014). *Staphylococcus aureus* yang tumbuh akan memfermentasi manitol menjadi asam. Isolasi ini dilakukan dengan menginokulasi sampel dari biakan bakteri BAP ke dalam media MSA menggunakan ose dan dilakukan metode *T-Streak*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Dewi, 2013).

Pewarnaan Gram dilakukan untuk melihat morfologi dan sifat dari bakteri. Pertama, siapkan *object glass* untuk membuat sediaan ulas, bersihkan dengan alkohol kemudian tetesi NaCl fisiologis dan ambil biakan bakteri menggunakan ose steril lalu lalu difiksasi di atas bunsen. Setelah itu, *object glass* ditetesi pewarna *crystal violet* dan didiamkan selama 1 menit. Sisa zat warna yang menempel dibilas menggunakan air yang mengalir, lakukan hal yang sama untuk semua preparat kemudian ditetesi lugol dan dibiarkan selama 30 detik lalu dibuang dan lakukan kembali pembilasan dengan air mengalir. Setelah itu, preparat dilunturkan dengan alkohol 95% selama 30 detik hingga

semua zat warna luntur dan segera cuci kembali dengan air yang mengalir. Selanjutnya ditetaskan kembali zat warna safranin dan dibiarkan selama 1 menit lalu dibilas kembali dengan air yang mengalir dan dibiarkan hingga kering. Lakukan pengamatan preparat menggunakan mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 100x dan menggunakan *immersion oil* (Hayati *et al.*, 2019a). Reaksi Gram akan menunjukkan gram positif dengan koloni berwarna ungu dan bergerombol yang memiliki bentuk menyerupai bola tidak berbentuk seperti buah anggur (Dewi, 2013).

Uji katalase dilakukan untuk membedakan genus *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.* Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H_2 dan O_2 . Pada sel hidrogen peroksida bersifat toksik karena menginaktifkan enzim didalam sel. Hidrogen peroksida akan terbentuk selama metabolisme aerob dan akan terurai. Cairan H_2O_2 ditetaskan di atas *object glass* dan ambil biakan bakteri menggunakan ose inokulum dari MSA lalu dicampurkan dengan ose secara perlahan. Apabila katalase bersifat positif, maka akan timbul gelembung gas (O_2) yang dihasilkan oleh genus *Staphylococcus* (Toelle and Lenda, 2014).

Uji koagulase merupakan suatu pemeriksaan bakteri untuk diferensiasi *Staphylococcus aureus* dari spesies *Staphylococcus* lainnya. Pemeriksaan ini dilakukan untuk mendeteksi adanya pembentukan enzim koagulase yang terikat ke dinding sel bakteri (Jiwintarum, *et al.*, 2015). Uji ini dilakukan dengan mengambil isolat bakteri menggunakan ose, kemudian masukkan ke dalam 1mL *Nutrient Broth* dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Masukkan 1mL plasma kelinci ke dalam *Nutrient Broth* yang sudah berisi bakteri menggunakan spuit. Kemudian inkubasi selama 4 jam pertama untuk melihat hasilnya, bila masih belum menunjukkan koagulase positif, inkubasi dilanjutkan sampai

24 jam. Reaksi positif pada uji koagulase ditunjukkan dengan adanya gumpalan seperti *gel* dalam tabung, dan reaksi negatif apabila tidak terdapat gumpalan menyerupai *gel* pada tabung (Hayati *et al.*, 2019b).

Uji DNase dilakukan untuk melihat aktivitas deoksiribonuklease dan koagulase positif pada bakteri. Bakteri yang telah dikultur kemudian diinokulasi pada DNase agar plate lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Jika bakteri tidak berkembang baik, dilakukan inkubasi kembali selama 24 jam. Setelah diinkubasi, *agar plate* digenangi oleh HCl 1 M selama 5 menit. Apabila positif, ditemukan zona bening di sekitar koloni yang menandakan adanya aktivitas DNase yang menghidrolisis deoksiribonuklease. Salah satu bakteri yang memiliki aktivitas DNase positif adalah *Staphylococcus aureus* (Umarudin and Surahmida, 2019).

Hasil dan Pembahasan

Dari serangkaian isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* dari susu sapi, sejumlah 48 sampel positif CMT $\geq +2$. Hasil uji secara fenotipik terdapat 48 isolat (100%) teridentifikasi tumbuh koloni pada media BAP. Kemudian dilakukan kultur bakteri pada media MSA yang menghasilkan reaksi positif sebanyak 14 isolat (29,2%). Lalu dilakukan pewarnaan Gram dengan hasil mikroskopis berbentuk coccus sebanyak 17 isolat (35,42%). Selanjutnya, dilakukan uji katalase dan koagulase dengan reaksi positif sebanyak 17 isolat (35,42%). Dilakukan uji DNase dengan reaksi positif sebanyak 12 isolat (25%). Dari serangkaian tersebut, maka dapat disimpulkan yang mengarah *Staphylococcus aureus* sebanyak 17 sampel (35,42%).

Pembahasan

Pada penelitian ini, didapatkan hasil bahwa kultur bakteri yang berasal dari susu pada

Tabel 1. Hasil Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* asal susu sapi mastitis subklinis di wilayah Pangalengan

Wilayah	Jumlah sampel	Hasil BAP CMT ($\geq +2$)	MSA		P.Gram		Katalase		Koagulase		BAP (Hemolisin)			DNase		Kesimpulan	
			+	-	+	-	+	-	+	-	β	γ	Tak tumbuh	+	-	<i>S. aureus</i>	Non <i>S. aureus</i>
Warnasari	16	16	1	15	5	11	5	11	5	11	2	3	11	2	14	5	11
Babakankiara	16	16	11	5	6	11	6	11	6	11	4	2	10	5	11	6	11
Citawa	16	16	2	14	6	10	6	10	6	10	4	2	10	5	11	6	10
Jumlah (%)		48	14	34	17	31	17	31	17	31	10	7	31	12	36	17	31
		100%	29,2%	70,8%	35,4%	64,6%	35,4%	64,6%	35,4%	64,6%	20,8%	14,6%	64,6%	25%	75%	35,42%	64,58%

media *Blood Agar* yaitu sebanyak 17 isolat menunjukkan zona hemolisa β dan γ . Sebanyak 31 isolat tidak mengalami pertumbuhan pada *blood agar*. Zona hemolisa yang terlihat dari media ini disebabkan oleh hemolisin yang merupakan zat toksin sehingga akan terjadi hemolisis di sekitar koloni bakteri. Pada media ini, hemolisin akan merusak sitoplasma sel darah merah yang menyebabkan lisis. Timbulnya zona hemolisa pada media *blood agar* sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Saeed *et al.*, (2022) bahwa pertumbuhan koloni pada media *blood agar* memiliki karakteristik hemolisa diantaranya adalah α -hemolisin atau biasa disebut dengan hemolisis sebagian yaitu zona terbentuk berwarna gelap dan bening di sekitar koloni. Hasil kultur lainnya, *Staphylococcus aureus* menghasilkan β -hemolisin atau sering disebut hemolisis total yang akan membentuk zona bening di sekitar koloni sehingga menghasilkan zona yang jelas dan transparan. *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan γ -hemolisin atau sering disebut dengan non-hemolisis tidak akan membentuk zona hemolisis (Saeed *et al.*, 2022).

Isolat dari setiap wilayah memiliki karakteristik hemolisa yang berbeda-beda. Wilayah Warnasari memiliki karakteristik sebanyak 2 β -hemolisin isolat dan γ -hemolisin sebanyak 3 isolat. Pada wilayah Babakankiara, β -hemolisin sebanyak 4 isolat dan γ -hemolisin sebanyak 2 isolat. Wilayah Citawa memiliki 4 isolat β -hemolisin serta 2 isolat γ -hemolisin.

Perbedaan jumlah hemolisin dari setiap wilayah yang berbeda-beda dapat menjadi potensi adanya patogen dari *Staphylococcus aureus* yang berbahaya tidak hanya pada sapi tetapi juga untuk kesehatan manusia. Patogenitas *Staphylococcus aureus* dalam kemampuannya untuk menghasilkan hemolisin pun berperan dalam menyebabkan penyakit pada berbagai spesies mamalia yang dapat merusak sel serta aktivasi respon inflamasi inang (Ariyanti *et al.*, 2011; Zhao, 2020). Hemolisin yang dihasilkan oleh bakteri digunakan untuk melepaskan zat besi dari sel darah merah yang diperlukan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan bakteri (Divyakolu *et al.*, 2019). β -hemolisin berperan penting dalam kolonisasi bakteri di kulit dengan merusak keratinosit (Rohmer 2021). γ -hemolisin menyebabkan

kerusakan jaringan akut dan pembengkakan (Vehmas, 2001). Menurut Divyakolu *et al.*, (2019) bahwa γ -hemolisin membentuk mikro pori yang menyebabkan lisisnya sel.



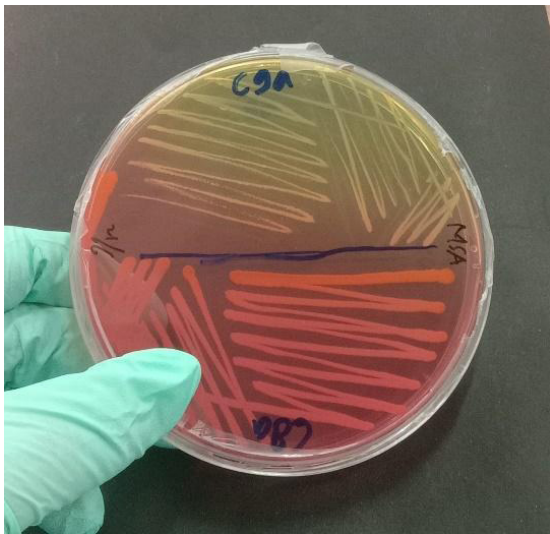
Gambar 1. Zona hemolisa *Staphylococcus aureus* pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan kode isolat S/B16 yang berasal dari wilayah Babakankiara

Koloni yang terlihat memiliki warna kuning karena kemampuannya dalam menghasilkan pigmen karotenoid yang berperan sebagai antioksidan untuk melindungi strain ini dari respons kekebalan inang (Almwafy *et al.*, 2020). *Staphylococcus aureus* yang mampu memproduksi pigmen berwarna kuning yang lebih patogen dibanding dengan bakteri yang memproduksi pigmen putih sehingga dapat diperkirakan bahwa faktor virulensi dari bakteri berwarna kuning yang akan menyebabkan infeksi (Purnomo, 2006).

Tahap identifikasi selanjutnya yaitu uji *Mannitol Salt Agar* (MSA) yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan *Staphylococcus* dalam memfermentasikan mannitol yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi warna kuning. Hasil identifikasi dari penelitian yaitu hanya 14 isolat (29,17%) isolat yang dapat memfermentasikan mannitol. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji lanjutan untuk menentukan *Staphylococcus aureus* lalu dilakukan identifikasi secara pemeriksaan laboratorium. Hal tersebut serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Lucia *et al.*, (2017) bahwa *Staphylococcus aureus* mengalami perubahan warna ketika dilakukan uji pada media MSA karena kemampuannya untuk menghasilkan asam organik yang mengubah warna media dari

phenol red menjadi kuning.

Penelitian Lucia *et al.*, (2017) menjelaskan pula mengenai MSA yang tidak dapat memfermentasikan mannitol. Hal ini terjadi karena adanya bakteri lain yang tumbuh di media ini merupakan genus *Staphylococcus* seperti *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus schelferi*. Namun, Nocera *et al.*, (2019) mengatakan bahwa bakteri CoNS mampu menghasilkan zona hemolisa pada *blood agar* dan memfermentasikan mannitol.

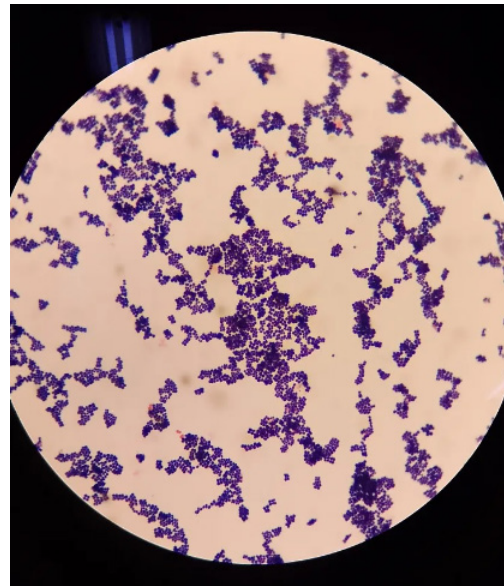


Gambar 2. *Staphylococcus aureus* pada media Mannitol Salt Agar (MSA). a) kode isolat C9 positif fermentasi mannitol, b) kode isolat C8 negatif fermentasi mannitol

Terjadi perubahan warna menjadi kuning keemasan telah sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Toelle, 2014). MSA merupakan media selektif- diferensial yang menandakan bahwa isolat yang diidentifikasi mengandung *Staphylococcus aureus* yang merupakan agen penyebab dari mastitis subklinis. Media MSA memiliki kandungan garam NaCl yang tinggi, sekitar 7,5-10%, sehingga mencegah pertumbuhan bakteri lain di dalamnya dan membuat MSA menjadi media yang hanya mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Novitasari *et al.*, 2019).

Pewarnaan Gram merupakan pengamatan mikroskopis yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang diklasifikasikan Gram positif. Sebanyak 17 (35,4%) isolat memiliki karakteristik dari bakteri Gram positif (Gambar 4.3). Hasil penelitian ini pun sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh

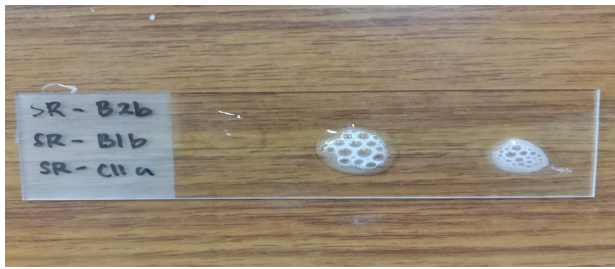
Hayati *et al.*, (2019) yang memberikan hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan pewarnaan Gram adalah bentuk kokus dan berwarna ungu. Warna ungu disebabkan karena Gram positif yang memiliki peptidoglikan pada dinding sel yang lebih tebal daripada Gram negatif dan mengandung *teichoic acid* (Kho and Meredith, 2018). Peptidoglikan yang dimiliki Gram positif akan mengalami penyusutan pada dinding sel ketika diberikan alkohol sehingga mempertahankan warna kristal violet. Peptidoglikan berfungsi mengatur aktivitas autolisin dan resistensi terhadap antibiotik (Winstel *et al.*, 2014).



Gambar 3. Hasil pewarnaan Gram dari isolat *Staphylococcus aureus* dengan perbesaran 100x (dokumentasi pribadi)

Uji yang dilakukan selanjutnya ialah uji katalase yang bertujuan untuk membedakan bakteri genus *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*. Pada penelitian ini, didapatkan hasil sebanyak 17 isolat (35,4%) adalah positif terhadap uji katalase. Hasil uji katalase positif menimbulkan gelembung ketika bakteri direaksikan dengan hidrogen peroksida (Dewi, 2013).

Menurut Toelle (2014), uji katalase uji ditujukan untuk melihat enzim katalase yang dimiliki *Staphylococcus* karena sifatnya yang dapat menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Enzim katalase dapat menjadi penentu tingkat virulensi bakteri. Katalase merupakan enzim yang bertindak sebagai katalis

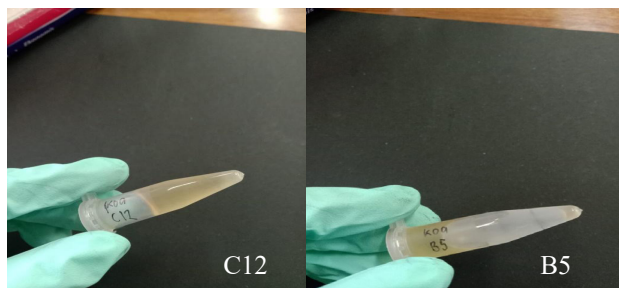


Gambar 4. Hasil uji katalase isolat *Staphylococcus aureus*. a) reaksi negatif uji katalase, b) dan c) reaksi positif uji katalase

dalam penguraian hidrogen peroksida menjadi H_2O dan O_2 . Keberadaan hidrogen peroksida dapat menyebabkan kerusakan pada sel karena zat ini memiliki sifat toksik yang dapat menghambat aktivitas enzim dalam sel. Hidrogen peroksida dihasilkan saat proses metabolisme aerob, sehingga semua mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob secara alami akan menguraikan zat tersebut (Lay, 1994). Dikutip dari Dewi (2013), menurut Schliefer (1986) bahwa semua galur *Staphylococcus* memiliki kemampuan positif dalam menghasilkan enzim katalase (Dewi, 2013).

Pengujian selanjutnya yaitu uji koagulase untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim koagulase. Hasil dari penelitian yang telah dilakukan yaitu sebanyak 24 isolat (50%) menunjukkan reaksi positif koagulase seperti penelitian yang dilakukan oleh Hayati *et al.*, (2013) yang menunjukkan hasil bahwa uji koagulase akan menghasilkan gumpalan seperti gel apabila reaksi positif. Dalam penelitian serupa Saeed *et al.*, (2019) pun menyebutkan bahwa 71,5% isolat adalah koagulase positif dan sisanya tidak menggumpalkan plasma.

Enzim koagulase mampu menggumpalkan plasma darah, sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Saeed *et al.*, (2022) bahwa enzim

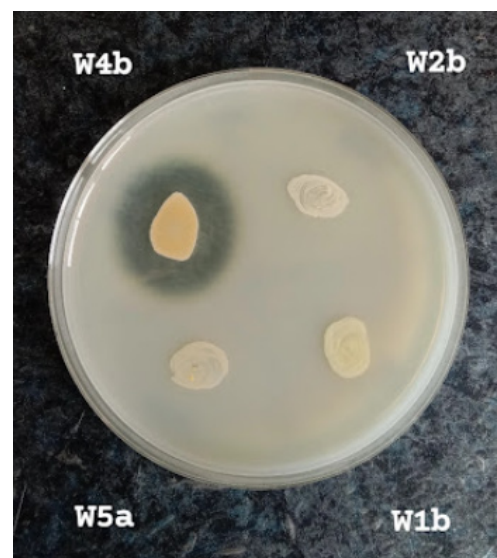


Gambar 5. Hasil uji koagulase isolat *Staphylococcus aureus*. a) kode isolat C12 reaksi positif uji koagulase, b) kode isolat B5 reaksi negatif uji koagulase

koagulase *Staphylococcus aureus* mampu mengaktifkan protrombin. Mereka berinteraksi dengan protrombin dalam darah untuk membentuk kompleks “Staphylothrombin”. Staphylothrombin kemudian mengaktifkan enzim protease yang mengubah fibrinogen menjadi fibrin dan membentuk gumpalan darah.

Enzim koagulase terbagi menjadi dua macam berdasarkan kemampuannya untuk menggumpalkan plasma yaitu koagulase positif dan koagulase negatif. Apabila plasma tidak segera diperiksa antara 4-24 jam, gumpalan yang terbentuk akan menghasilkan negatif palsu karena *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim fibrinolisin bersamaan dengan koagulase yang akan melarutkan gumpalan (Subramanian *et al.*, 2017). Menurut Cheng (2022) koagulase positif lebih patogen karena kemampuannya untuk mengikat fibrin merupakan sifat yang penting dari patogenesis penyakit yang mengarah pada pembentukan abses dan persistensi bakteri dalam jaringan inang.

Uji DNase merupakan uji untuk membedakan aktivitas mikroorganisme berdasarkan aktivitas deoksiribonuklease (DNase) dan juga mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus* yang berpotensi patogen. Hasil dari penelitian yang dilakukan sebanyak 12 isolat (25%) menunjukkan respon positif. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kateete *et al.*, (2010) bahwa terdapat zona bening di sekitar koloni bakteri ketika dituangkan HCl



Gambar 6. Hasil uji DNase isolat *Staphylococcus aureus*, kode sampel W4 merupakan reaksi positif dari uji DNase

1 M yang menunjukkan koloni bakteri positif DNase.

Hasil uji DNase pada bakteri *Staphylococcus aureus* akan memberikan respon positif karena bakteri ini menghasilkan enzim deoksiribonuklease (DNase). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pumipuntu *et al.*, (2017) bahwa hasil uji DNase yang menunjukkan reaksi negatif menjadikan uji ini kurang efektif untuk pemeriksaan infeksi *Staphylococcus aureus* pada sapi perah. DNase pada bakteri *Staphylococcus aureus* berperan terhadap timbulnya nanah pada jaringan ambing yang terinfeksi. Hal ini sesuai dengan penelitian Saeed *et al.*, (2022) enzim DNase memiliki peran untuk menyebarkan *Staphylococcus aureus* dengan mencairkan nanah ketika sapi mengalami mastitis.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* dari susu sapi mastitis subklinis di Pangalengan menggunakan metode kultur pada media *Blood Agar Plate* (BAP), *Mannitol Salt Agar* (MSA), pewarnaan Gram, uji katalase, uji DNase, serta uji koagulasi. Dari 48 isolat sampel susu, disimpulkan bahwa 17 isolat (35,42%) dari total 48 sampel adalah positif *Staphylococcus aureus*. Sebanyak 5 isolat dari Warnasari, 6 isolat dari wilayah Babakankiara dan 6 isolat dari wilayah Citawa.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih penulis ucapkan kepada pihak KPBS Pangalengan, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran dan semua pihak atas dukungan dan bantuan yang telah diberikan dalam proses penulisan kajian pustaka ini. “Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

Daftar Pustaka

- Abdussamad, Z. (2021) *Metode Penelitian Kualitatif*. 1st edn. Edited by P. Rapanna. CV. Syakir Media Press.
- Abril, A.G. *et al.* (2020) ‘*Staphylococcus aureus* Exotoxins and Their Detection in the Dairy Industry and Mastitis’, *Toxins*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/toxins12090537>.
- Adriani (2010) ‘Penggunaan Somatik Cell Count (SCC), jumlah bakteri dan California Mastitis Test (CMT) untuk deteksi mastitis pada kambing’, *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, XIII(5), pp. 229–234.
- Akineden, Ö. *et al.*, (2001) ‘Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis’, *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8(5), pp. 959–964. Available at: <https://doi.org/10.1128/CDLI.8.5.959-964.2001>.
- Alhussien, M.N. and Dang, A.K. (2020) ‘Sensitive and rapid lateral-flow assay for early detection of subclinical mammary infection in dairy cows’, *Scientific Reports*, 10(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68174-0>.
- Almwafy, A.T. *et al.*, (2020) ‘Preliminary characterization and identification of gram positive hemolysis bacteria’, *Az. J. Pharm Sci*, 62.
- Amukti, R. *et al.*, (2017) ‘Identifikasi Kerentanan Longsor Daerah Pangalengan Dengan Metode Slope Morphology’, *JPSE (Journal of Physical Science and Engineering)*, 2(1), pp. 1–6. Available at: <https://doi.org/10.17977/um024v2i12017p001>.
- Anggraeni, A. and Iskandar, S. (2008) *Peran budidaya sapi perah dalam mendorong berkembangnya industri persusuan nasional*. Bogor.
- Anindita, N.S. and Soyi, D.S. (2017) ‘Studi kasus: Pengawasan kualitas pangan hewani melalui pengujian kualitas susu sapi yang beredar di Kota Yogyakarta’, *Jurnal Peternakan Indonesia*, 19(2), pp. 93–102.
- Argaw, A. (2016) ‘Review on epidemiology of clinical and subclinical mastitis on dairy cows’, *Food Science and Quality Management*, 52, pp. 56–65. Available at: www.iiste.org.

- Ariyanti, D. *et al.* (2011) *Characterization of Haemolysin of Staphylococcus aureus isolated from food of animal origin*. Yogyakarta.
- Aslantaş, Ö. and Demir, C. (2016) 'Investigation of the antibiotic resistance and biofilm-forming ability of Staphylococcus aureus from subclinical bovine mastitis cases', *Journal of Dairy Science*, 99(11), pp. 8607–8613. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11310>.
- Aziz, F. *et al.*, (2020) 'Deteksi Staphylococcus aureus dan Staphylococcus sp. secara langsung dari susu segar kambing Peranakan Etawa dengan teknik PCR', *Jurnal Sain Veteriner*, 38(2), p. 168. Available at: <https://doi.org/10.22146/jsv.53802>.
- Badan Pusat Statistik (2023) *Produksi Susu Perusahaan Sapi Perah 2019-2021*. Available at: <https://www.bps.go.id/indicator/24/376/1/produksi-susu-perusahaan-sapi-perah.html> (Accessed: 22 March 2023).
- Balemi, A. *et al.* (2021) 'Prevalence of mastitis and antibiotic resistance of bacterial isolates from cmt positive milk samples obtained from dairy cows, camels, and goats in two pastoral districts in southern ethiopia', *Animals*, 11(6). Available at: <https://doi.org/10.3390/ani11061530>.
- Bianchi, R.M. *et al.*, (2019) 'Pathological and microbiological characterization of mastitis in dairy cows', *Tropical Animal Health and Production*, 51(7), pp. 2057–2066. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01907-0>.
- Blowey, R. and Edmonson, P. (2010) *Mastitis Control in Dairy Herds, 2nd Edition*. 2nd edn. Edited by R.W. Blowey and P. Edmonson.
- Brouillette, E. *et al.*, (2004) 'Persistence of a Staphylococcus aureus small-colony variant under antibiotic pressure in vivo', *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 41(1), pp. 35–41. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.femsim.2003.12.007>.
- Campos, B. *et al.* (2022) 'Diversity and pathogenesis of Staphylococcus aureus from bovine mastitis: current understanding and future perspectives', *BMC Veterinary Research*. BioMed Central Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03197-5>.
- Chauhan, R. and Agarwal, D. (2011) *Textbook of Veterinary Clinical and Laboratory Diagnosis*. 2nd edn. Edited by Chauhan Rs and D. Agarwal.
- Chen, H. *et al.* (2022) 'Exploring the Role of Staphylococcus aureus in Inflammatory Diseases', *Toxins*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/toxins14070464>.
- Chhargari, M.U. and Muhammad, G. (2009) *Mastitis control in dairy production*. Available at: <http://www.fspublishers.org>.
- Contreras, G.A. and Sordillo, L.M. (2011) 'Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows', *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 34(3), pp. 281–289. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.01.004>.
- Daley, M.J. *et al.* (1991) 'Staphylococcus aureus Mastitis: Pathogenesis and Treatment with Bovine Interleukin-1 β and Interleukin-2', *Journal of Dairy Science*, 74(12), pp. 4413–4424. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78637-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78637-2).
- Dewi, A.K. (2013) *Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas Staphylococcus aureus terhadap Amoxicillin dari sampel susu kambing Peranakan Ettawa (PE) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta*. Yogyakarta.
- Dinas Ketahanan Pangan dan Peternakan Jawa Barat (2023) *Jumlah Produksi Susu Sapi Berdasarkan Kabupaten/Kota di Jawa Barat*. Available at: <https://opendata.jabarprov.go.id/id/dataset/jumlah-produksi-susu-sapi-berdasarkan-kabupatenkota-di-jawa-barat> (Accessed: 12 February 2023).
- Divyakolu, S. *et al.*, (2019) 'Hemolysins of Staphylococcus aureus-an update on their

- biology, role in pathogenesis and as targets for anti-virulence therapy', *Advances in Infectious Diseases*, 09(02), pp. 80–104. Available at: <https://doi.org/10.4236/aid.2019.92007>.
- El-Agamy, E.I. (2007) 'The challenge of cow milk protein allergy', *Small Ruminant Research*, 68(1–2), pp. 64–72. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.016>.
- Graugnard, D.E. *et al.* (2012) 'Blood immunometabolic indices and polymorphonuclear neutrophil function in peripartum dairy cows are altered by level of dietary energy prepartum', *Journal of Dairy Science*, 95(4), pp. 1749–1758. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4579>.
- Haran, K.P. *et al.* (2012) 'Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, isolated from bulk tank milk from Minnesota dairy farms', *Journal of Clinical Microbiology*, 50(3), pp. 688–695. Available at: <https://doi.org/10.1128/JCM.05214-11>.
- Hayati, L.N. *et al.* (2019a) 'Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi', *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), p. 76. Available at: <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>.
- Hayati, L.N. *et al.* (2019b) 'Isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* pada susu kambing peranakan Etawah penderita mastitis subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi', *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), p. 76. Available at: <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>.
- Herlina, N. *et al.* (2015) 'Isolasi dan identifikasi *Staphylococcus aureus* dari susu mastitis subklinis di Tasikmalaya, Jawa Barat', *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDONE*, 1 Nomor 3, pp. 413–417. Available at: <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010305>.
- Heryana, A. (2020) *Desain penelitian non-eksperimental*. Available at: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30493.95201>.
- Jiwintarum, Y., Srigede, L. and Rahmawati, A. (2015) 'Perbedaan hasil uji koagulase menggunakan plasma sitrat manusia 3,8%, plasma sitrat domba 3,8%, plasma sitrat kelinci 3,8% pada bakteri *Staphylococcus aureus*', *Jurnal Kesehatan Prima*, 9, No. 2, pp. 1559–1569. Available at: <https://doi.org/DOI:10.32807/jkp.v9i2.77>.
- Kaczorek-Łukowska, E. *et al.* (2022) 'Staphylococcus aureus from subclinical cases of mastitis in dairy cattle in Poland, what are they hiding? Antibiotic resistance and virulence profile', *Pathogens*, 11(12), pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.3390/pathogens11121404>.
- Kateete, D.P. *et al.* (2010) 'Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test', *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9. Available at: <https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-23>.
- Kementerian Pertanian Direktorat Kesehatan Hewan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian (2014) *Manual Penyakit Hewan Mamalia*.
- Kibebew, K. (2017) 'Bovine Mastitis: A Review of Causes and Epidemiological Point of View', 7(2). Available at: www.iiste.org.
- Kumar, R., Yadav, B.R. and Singh, R.S. (2010) 'Genetic determinants of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from milk of mastitic crossbred cattle', *Current Microbiology*, 60(5), pp. 379–386. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9553-1>.
- Larasati, D.A. (2016) 'Faktor yang berpengaruh terhadap produktivitas susu sapi perah di Desa Geger Kecamatan Sendang Kabupaten Tulungagung', *Jurnal Geografi* 14 Nomor 1, pp. 34–41. Available at: www.duniasapi.com.
- Lestari, F.B. and Salasia, S.I.O. (2015) *Karakterisasi *Staphylococcus aureus**

- Isolat Susu Sapi Perah Berdasar Keberadaan Protein-A pada Media Serum Soft Agar terhadap Aktivitas Fagositosis Secara In Vitro, Jurnal Sain Veteriner.* Yogyakarta.
- Liu, G.Y. *et al.*, (2005) 'Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity', *Journal of Experimental Medicine*, 202(2), pp. 209–215. Available at: <https://doi.org/10.1084/jem.20050846>.
- Liu, K. *et al.* (2020) 'Characterization of Staphylococcus aureus Isolates From Cases of Clinical Bovine Mastitis on Large-Scale Chinese Dairy Farms', *Frontiers in Veterinary Science*, 7. Available at: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.580129>.
- Lowy, F.D. (1998) 'Review articles: Staphylococcus aureus infections', *The New England Journal of Medicine*, 339, pp. 520–529.
- Lucia, M. *et al.*, (2017) 'Detection of Staphylococcus Aureus and Streptococcus Agalactiae: Subclinical Mastitis Causes in Dairy Cow and Dairy Buffalo (Bubalus Bubalis)', *American Journal of Biomedical Research*, 5(1), pp. 8–13. Available at: <https://doi.org/10.12691/ajbr-5-1-2>.
- Malek dos Reis, C.B. *et al.* (2013) 'Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows', *BMC Veterinary Research*, 9. Available at: <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-67>.
- Meri Kristin Simanjuntak, F. and Rosita Tarigan, dan (2022) *Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajarannya Influence The Grating of Essentials Oil From Leaves of The Betle (Piper betle Linn) Against The Growth of Bacteria Staphylococcus aureus Rosebanch.*
- Moroni, P. *et al.* (2006) 'Relationships between somatic cell count and intramammary infection in buffaloes', *Journal of Dairy Science*, 89(3), pp. 998–1003. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72165-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72165-8).
- Muehlhoff, E., Bennett, A. (Dairy scientist) and McMahon, D. (Nutrition consultant) (2013) *Milk and dairy products in human nutrition*. Rome: Food and Agriculture Organization Of The United Nations.
- Nalendra, A.R.A. *et al.*, (2021) *Statistika Seri Dasar dengan SPPS*. 1st edn. Bandung: Media Sains Indonesia. Available at: <https://repository.bsi.ac.id/index.php/unduh/item/297173/Buku-Digital---STATISTIKA-SERI-DASAR-DENGAN-SPPS.pdf> (Accessed: 14 February 2023).
- Namira, N. *et al.*, (2022) 'Kajian pustaka: komparasi metode deteksi mastitis subklinis', *Acta Teterinaria Indonesiana*, 10(1), pp. 39–50. Available at: <http://www.journal.ipb.ac.id/index.php/actavetindones>.
- Narváez-Semanate, J.L. *et al.*, (2022) 'Diagnostic methods of subclinical mastitis in bovine milk: an overview', *Revista Facultad Nacional de Agronomia Medellin*. Universidad Nacional de Colombia, pp. 10077–10088. Available at: <https://doi.org/10.15446/rfnam.v75n3.100520>.
- Neelam *et al.*, (2022) 'Virulence and antimicrobial resistance gene profiles of Staphylococcus aureus associated with clinical mastitis in cattle', *PLoS ONE*, 17(5 May). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264762>.
- Nisa, H.C. *et al.*, (2019) 'Analisis faktor yang mempengaruhi kejadian mastitis subklinis dan klinis pada sapi perah', 8(1), pp. 66–70.
- Novitasari, T.M. *et al.*, (2019) 'Potensi Ikan Teri Jengki (Stolephorus indicus) Sebagai Bahan Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus', *Jurnal Analis Medika Bio Sains*, 6(1), pp. 1–15.
- Nugroho, A.T., Surjowardojo, P. and Ihsan, M.N. (2010) *Penampilan produksi sapi perah Friesian Holstein (FH) pada berbagai paritas dan bulan laktasi di ketinggian tempat yang berbeda*. Malang. Available at: <https://media.neliti.com/media/publications/98974-ID->

- penampilan-produksi-sapi-perah-friesian.pdf (Accessed: 23 March 2023).
- Nurhayati, I.S. and Martindah, E. (2015) 'Pengendalian mastitis subklinis melalui pemberian antibiotik saat periode kering pada sapi perah', *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*, 25 No. 2, pp. 65–74. Available at: <https://doi.org/10.14334/wartazoa.v25i2.1143>.
- Pal, M. *et al.* (2020) 'Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance, and economic impact of *Staphylococcus Aureus*: a comprehensive review', *American Journal of Public Health Research*, 8(1), pp. 14–21. Available at: <https://doi.org/10.12691/ajphr-8-1-3>.
- Panseri, S. *et al.* (2021) 'Determination of carbohydrates in lactose-free dairy products to support food labelling', *Foods*, 10(6). Available at: <https://doi.org/10.3390/foods10061219>.
- Park, Y.W. *et al.* (2007) 'Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk', *Small Ruminant Research*, 68(1–2), pp. 88–113. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.013>.
- Paszczyk, B. (2022) 'Cheese and Butter as a Source of Health-Promoting Fatty Acids in the Human Diet', *Animals*, 12(23). Available at: <https://doi.org/10.3390/ani12233424>.
- Piepers, S. *et al.* (2007) 'Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium', *Journal of Dairy Research*, 74(4), pp. 478–483. Available at: <https://doi.org/10.1017/S0022029907002841>.
- Pumipuntu, N. *et al.* (2017) 'Screening method for *Staphylococcus aureus* identification in subclinical bovine mastitis from dairy farms', *Veterinary World*, 10(7), pp. 721–726. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.721-726>.
- Rahmawati, S. *et al.* (2018) *Identifikasi total Coliform, E.Coli dan Salmonella Spp. sebagai indikator sanitasi makanan kantin di lingkungan kampus terpadu Universitas Islam Indonesia, Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan*.
- Riyanto, J. *et al.* (2016) 'Produksi dan kualitas susu sapi perah penderita mastitis yang mendapat pengobatan antibiotik', *Sains Peternakan*, 14(2), pp. 30–41.
- Rohmer, C. and Wolz, C. (2021) 'The Role of hlb-Converting Bacteriophages in *Staphylococcus aureus* Host Adaption', *Microbial Physiology*. S. Karger AG, pp. 109–122. Available at: <https://doi.org/10.1159/000516645>.
- Saeed, M.M. *et al.* (2022) 'A review of animal diseases caused by *Staphylococci*', *Revista Latinoamericana de Hipertension*, 17(1), pp. 39–45. Available at: <https://doi.org/10.5281/zenodo.6481584>.
- Saglam, A.G. *et al.* (2017) 'The role of staphylococci in subclinical mastitis of cows and lytic phage isolation against to *Staphylococcus aureus*', *Veterinary World*, 10(12), pp. 1481–1485. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1481-1485>.
- Shavira, A., Cahyadi, A.I. and Windria, S. (2022) 'Kajian Pustaka Aktivitas Antibakteri dari Bakteriosin *Lactobacillus* spp. Terhadap Bakteri Resistan', *Jurnal Sain Veteriner*, 40(1), p. 60. Available at: <https://doi.org/10.22146/jsv.67927>.
- Subramanian, A. *et al.* (2017) 'Evaluation of Hiaureus™ coagulase confirmation kit in identification of *Staphylococcus aureus*', *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(2), pp. DC08–DC13. Available at: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/24021.9265>.
- Sugiyono (2013) *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. 19th edn. Gegerkalong Hilir: CV.ALFABETA.
- Susanty, H. *et al.* (2018) 'Agroclimatic effects on milk production and sub-clinical mastitis prevalence in dairy cattle', *Lion and the Unicorn*, 42(2), pp. 373–382. Available at: <https://doi.org/10.14710/jitaa.43.4.373-382>.

- Tammi, A. (2015) *Aktifitas antibakteri buah Makasar (Brucea javanica) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus*. Lampung.
- Tegegne, D.T. *et al.*, (2021) 'Molecular characterization of virulence factors in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Ethiopia', *Annals of Microbiology*, 71(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01639-3>.
- Thompson, A., Boland, M. and Singh, H. (2009) *Milk Proteins: From Expression to Food*.
- Toelle, N.N. and Lenda, V. (2014) 'Identifikasi dan karakteristik *Staphylococcus* Sp. dan *Streptococcus* Sp. dari infeksi ovarium pada ayam petelur komersial', *Jurnal Ilmu Ternak*, 1(7), pp. 32–37.
- Umarudin and Surahmaida (2019) 'Isolasi, identifikasi, dan uji antibakteri kitosan cangkang bekicot (*Achatina fulica*) terhadap *Staphylococcus aureus* dari penderita ulkus diabetikum', *Simbiosis*, 8(1), pp. 37–49. Available at: <https://doi.org/10.33373/sim-bio.v8i1.1894>.
- Utomo, B. and Miranti, D.P. (2010) *Tampilan produksi susu sapi perah yang mendapat perbaikan manajemen pemeliharaan, Caraka Tani*. Jawa Tengah.
- Waskita, P.T. *et al.* (2020) *Antibiotic resistance analysis of *Staphylococcus aureus* as a main cause of mastitis in the Southern Region of Bandung Regency*. Jatinangor. Available at: http://animalsciencejournal.usamv.ro/pdf/2020/issue_1/Art34.pdf (Accessed: 9 March 2023).
- Wulansari, R. *et al.*, (2017) 'Kadar kalsium pada sapi perah penderita mastitis subklinis di Pasir Jambu, Ciwidey', *Acta Veterinaria Indonesiana*, 5(1), pp. 16–21. Available at: <http://www.journal.ipb.ac.id/indeks.php/actavetindones>.
- Zellatifanny, C.M. and Mudjiyanto, B. (2018) *Tipe penelitian deskripsi dalam ilmu komunikasi, Jurnal Diakom*.
- Zhang, J. *et al.*, (2018) 'Genetic and virulent difference between pigmented and non-pigmented *Staphylococcus aureus*', *Frontiers in Microbiology*, 9(APR). Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00598>.
- Zhao, X. and Lacasse, P. (2008) 'Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control.', *Journal of animal science*, pp. 57–65. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0302>.