

## Komparasi Metode *coa Polymorphism* dan *coa Typing* pada Bakteri *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Sumber Berbeda

### *Comparison of coa Polymorphism and coa Typing Methods in Staphylococcus aureus Bacteria from Different Isolates Sources*

Fatkhanuddin Aziz<sup>1\*</sup>, Fauziah Fitriana<sup>1</sup>, Dian Ritma Setyorini<sup>1</sup>, Nur Ika Prihanani<sup>1</sup>, Shafira Amalia Putri<sup>1</sup>, Tifa Restyka Maulina<sup>1</sup>, Vira Kartika Dewi<sup>1</sup>, Morsid Andityas<sup>1</sup>, Fajar Budi Lestari<sup>1</sup>, Nurulia Hidayah<sup>1</sup>, Risa Ummami<sup>1</sup>, dan Achmad Fauzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Veteriner, Departemen Teknologi Hayati dan Veteriner, Sekolah Vokasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

\*Email: fatkhanuddin.aziz@mail.ugm.ac.id

Naskah diterima: 25 Oktober 2023, direvisi: 14 November 2023, disetujui: 31 Maret 2024

#### Abstract

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is a coagulase-positive bacteria that causes a wide range of clinical diseases in humans and animals. Determination of *coa* gene pattern is one of the methods in the epidemiological studies of *S. aureus*. This study aimed to compare *coa* polymorphism and *coa* typing methods on *S. aureus* isolates collected from different sources. Seventeen collections of *S. aureus* isolates from (9) pasteurized milk, (4) mastitis milk of etawa crossbreed goat, and (4) fresh chicken meat was grown from -80°C glycerol stock. DNA was extracted and amplified the coagulase (*coa*) encoding gene by PCR technique using primers that are specific for *coa* polymorphism and *coa* typing. It was found that the level of discrimination of *coa* typing was more varied than *coa* polymorphism in the 17 isolates tested. The *coa* typing method showed 7 different types, while *coa* polymorphism only 3 types. In the present study, 4 of the 17 isolates could not be determined by *coa* typing. This finding suggests the potential for developing new types of *coa* typing for Indonesian isolates, useful in epidemiological studies.

**Keywords:** Coagulase; isolate; *S. aureus*; type

#### Abstrak

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan golongan bakteri koagulase positif yang menyebabkan berbagai macam penyakit klinis pada manusia dan hewan. Determinasi pola gen *coa* merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam lingkup studi epidemiologi *S. aureus*. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan metode *coa polymorphism* dan *coa typing* pada isolat *S. aureus* yang diisolasi dari sumber berbeda. Sebanyak 17 koleksi isolat *S. aureus* yang terdiri dari 9 isolat asal susu pasteurisasi, 4 isolat asal susu mastitis kambing peranakan etawa, dan 4 isolat asal daging ayam segar ditumbuhkan dari stok gliserol -80°C, kemudian dilakukan ekstraksi DNA dan amplifikasi gen penyandi koagulase (*coa*) dengan teknik PCR menggunakan primer untuk *coa polymorphism* dan *coa typing*. Diketahui, level diskriminasi *coa typing* lebih variatif dibandingkan dengan *coa polymorphism* pada 17 isolat yang diuji. Metode *coa typing* menunjukkan 7 tipe berbeda, sedangkan *coa polymorphism* hanya 3 tipe. Penelitian ini memperlihatkan 4 dari 17 isolat tidak dapat ditentukan *coa typing*. Hal tersebut mengindikasikan potensi pengembangan tipe baru *coa typing* isolat-isolat asal Indonesia, untuk kepentingan studi epidemiologi.

**Kata kunci:** isolat; koagulase; *S. aureus*; tipe

## Pendahuluan

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan bakteri gram positif yang menyebabkan berbagai macam penyakit klinis pada manusia dan hewan (Bruce, *et al.*, 2022; Miyake *et al.*, 2022). Infeksi *S. aureus* pada manusia termasuk di antaranya bakteremia, endokarditis, infeksi kulit dan jaringan lunak (misalnya impetigo, folikulitis, furunkel, karbunkel, selulitis, sindrom kulit melepuh, dan lain-lain), osteomielitis, artritis septik, infeksi paru (misalnya pneumonia dan empiema), gastroenteritis, meningitis, sindrom syok toksik, dan infeksi saluran kemih (Miyake *et al.*, 2022). Selain pada manusia, *S. aureus* dikenal luas sebagai penyebab radang ambing pada ternak perah (mastitis) (Effendi *et al.*, 2019; Ren *et al.*, 2020; Suwito *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022). Selain itu, bakteri ini sering mengontaminasi makanan dan produk asal hewan sehingga diasosiasikan dengan penyakit keracunan makanan (*food poisoning*) (Zhang *et al.*, 2022; Nadiya *et al.*, 2023). Dilaporkan *S. aureus* mengontaminasi berbagai macam makanan seperti daging, produk olahan daging, susu, produk olahan susu, unggas, telur, ikan, salad sayuran, dan kue-kue berisi krim (Le Loir *et al.*, 2003; Ariyanti; *et al.*, 2011; Denayer *et al.*, 2017).

*S. aureus* memproduksi berbagai macam faktor virulensi (Cheung *et al.*, 2021). Faktor virulensi tersebut diantaranya hemolisin, leukosidin, protease, enterotoksin, racun eksfoliatif, faktor modulasi imun dan koagulase (Cheung *et al.*, 2021; Neelam *et al.*, 2022). Salah satu faktor virulensi yang sangat berperan penting dalam patogenesitas *S. aureus* adalah kemampuannya memproduksi koagulase (Effendi *et al.*, 2019).

Koagulase berkontribusi terhadap patogenesitas *S. aureus* dengan membantu kolonisasi dan mekanisme penghindaran sistem kekebalan tubuh inang (Locatelli *et al.*, 2023). Diketahui terdapat dua faktor koagulasi pada *S. aureus* yang berkontribusi terhadap virulensinya, yaitu protein koagulase (*coa*) dan protein pengikat faktor von Willebrand (vWbp) (Hookey *et al.*, 1998). Selama infeksi, kedua koagulase tersebut bereaksi dengan prothrombin yang ada di dalam

darah dan menghasilkan staphyothrombin yang kemudian bertindak sebagai enzim protease yang mempunyai kemampuan mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin (Thomas *et al.*, 2019). Fibrin kemudian melapisi permukaan *S. aureus*, sehingga memungkinkan menghindari *opsonophagocytic* dari sistem imun inang (Sakai *et al.*, 2008; Thomas *et al.*, 2019).

*S. aureus* termasuk bakteri koagulase positif, hal ini dikarenakan bakteri tersebut memiliki gen *coa* (Hema *et al.*, 2022; Murugesan *et al.*, 2023). Gen *coa* yang mengkode protein koagulase, diketahui bersifat polimorfik dengan rangkaian urutan basa nukleotida yang variabel berupa *tandem repeat* 81 bp pada ujung 3' (Hookey *et al.*, 1998). Polimorfik gen *coa* memungkinkan diferensiasi antar *strain S. aureus*, sehingga banyak digunakan oleh para peneliti dalam studi epidemiologi dengan mengetahui pola gen tersebut (Locatelli *et al.*, 2023). Determinasi pola gen *coa* dilakukan dengan primer yang homolog dengan wilayah yang *conserved* dalam gen *coa*. Karena jumlah *tandem repeat* dalam gen *coa* bervariasi, produk reaksi berantai *polymerase chain reaction* (PCR) yang dihasilkan dari masing-masing *strain* dapat memiliki panjang yang berbeda (Sakai *et al.*, 2008).

Studi *S. aureus* menggunakan metode *coa polymorphism* (Hookey *et al.*, 1998) dan *coa typing* (Sakai *et al.*, 2008) telah banyak dilakukan sebelumnya (Sato'o *et al.*, 2014; Cho *et al.*, 2019; Effendi *et al.*, 2019; Kitagawa *et al.*, 2019; Hashemizadeh *et al.*, 2022; Miyazawa *et al.*, 2022; Martínez-Seijas *et al.*, 2023). Metode *coa polymorphism* (Hookey *et al.*, 1998) dilakukan dengan amplifikasi PCR pada gen *coa* yang akan menghasilkan produk PCR dengan ukuran berbeda-beda, sesuai dengan polimorfisme sekuensnya. Sedangkan metode *coa typing* (Sakai *et al.*, 2008) mengelompokkan gen *coa* menjadi 8 tipe (I-VIII) dengan set primer yang telah ditentukan sebelumnya. Baik pada metode *coa polymorphism*, maupun *coa typing*, peneliti kemudian akan mengelompokkan *strain S. aureus* pada pola gen *coa* yang sama. Namun demikian, hubungan di antara kedua metode tersebut belum pernah dilaporkan sebelumnya.

Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan metode *coa polymorphism* dan

*coa* typing pada koleksi isolat *S. aureus* yang diisolasi dari sumber berbeda. Perbandingan dua metode tersebut diharapkan memberikan gambaran bagi peneliti lain dalam pemilihan metode yang akan digunakan dalam studi epidemiologi *S. aureus* berdasarkan gen *coa*.

### Materi dan Metode

#### Isolat Bakteri dan ekstraksi DNA

Penelitian ini menggunakan total 17 isolat *S. aureus* yang terdiri dari 9 isolat asal susu pasteurisasi, 4 isolat asal susu mastitis kambing peranakan etawa dan 4 isolat asal daging ayam segar dari penelitian sebelumnya (Fitriana, 2022; Maulina, 2022; Putri, 2023; Setyorini, 2023). Isolat dalam stok gliserol -80°C ditumbuhkan pada media Trypticase Soya Agar (TSA) (Oxoid, England). Selanjutnya ekstraksi DNA dari biak murni pada TSA menggunakan FavorPrep™ Blood/Cultured Cells Genomic DNA Extraction Mini Kit (FavorPrep, Taiwan). Lima sampai sepuluh koloni tunggal dikumpulkan menggunakan ose steril dan dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf 1,5 ml yang berisi 200 µl Lysis buffer (20 mg/ml lysozyme; 20 mM Tris-

HCl; 2 mM EDTA; 1% Triton X-100, pH 8.0). Sebanyak 5 µl Lysostaphin (5 mg/ml) (Sigma, USA) ditambahkan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Dinding sel *S. aureus* dilisiskan sempurna menggunakan 200 µl buffer FABG kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Sebanyak 200 µl etanol absolut ditambahkan ke dalam campuran dan divortex. DNA dalam campuran diikat ke matriks kolom FABG dengan cara disentrifugasi pada 14.000 x g selama 1 menit. Kolom FABG dicuci menggunakan 400 µl W1 Buffer dan 600 µl Wash Buffer dengan sentrifugasi pada 14.000 x g selama 1 menit. Kolom disentrifugasi lagi selama 3 menit pada 14.000 x g untuk mengeringkan matriks kolom. Terakhir, DNA diekstraksi dalam 50 µl Elution Buffer (preheated 70°C) dan disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan.

#### Identifikasi molekuler *S. aureus* dan *coa* typing

Tujuh belas isolat *S. aureus* yang ditumbuhkan ulang dari stok gliserol dikonfirmasi dengan gen target 23S rRNA yang spesifik spesies *S. aureus* (Straub et al., 1999).

**Tabel 1.** Target gen dan sekuen primer yang digunakan untuk proses amplifikasi PCR.

Gen	Sekuen DNA (5'-3')	Annealing	Ukuran (bp)	Referensi
23S rRNA <i>S. aureus</i>	ACGGAGTTACAAAGGACGAC	64°C	1250	Straub et al. (1999)
	AGCTCAGCCTTAACGAGTAC			
Staphylocoagulase serotype ( <i>coa</i> typing)	ATAGAGATGCTGGTACAGG	58°C	600	Hookey et al. (1998)
	GCTTCCGATTGTTTCGATGC		680	
	I GCATTGGATATTTAGAGAC		644	
	TCAAAACCTTCACTGTGATT			
	II AGAGGCACAATTTACTGGA		342	
	CCATCTTTATCAAACCTGC			
	III GCTCTATATTATTTGGAAGACT		310	
	GAAAATCATCCAGTGCTCTC			
	IV AAAGTGAAAATCCACATTCTAG		490	
	TCTCTATTTTCAGGCTTATTA		48°C	
V GAGAAAAGATATTTAAAAGCTGG	482			
TTCTTTGTTATCTTTAGGGCT				
VI TTACTIONTTGGGGAAAATCG	269			
CCATAGTTAGATTATATACAC				
VII TTCATTTACTGGATCAGC	217			
GTAAATCGCCAAGATCG				
VIII CACTTATTACTGGGGAGT	358			
CTTTTTCGACTGTATATCATC				

Determinasi genotipik penyandi koagulase dilakukan dengan *coa polymorphism* (Hookey *et al.*, 1998) dan *coa typing* (Sakai *et al.*, 2008). Sebanyak 25 µl campuran PCR untuk amplifikasi gen target terdiri dari 5 µl mastermix (5X PCR Master Dye Mix, ExcelTaq, SMOBIO, Taiwan), 1 µl primer *forward* (10 pmol/µl), 1 µl primer *reverse* (10 pmol/µl), 16 µl DDH<sub>2</sub>O, dan 2 µl DNA *template*. Primer 23S rRNA *S. aureus* dan *coa polymorphism* didapat dari IDT (Integrated DNA Technologies, Inc., Singapura), sedangkan primer *coa typing* merupakan hibah dari Prof. Motoyuki Sugai, *National Institute of Infectious Diseases*, Tokyo, Jepang. Campuran dalam 0.2 ml PCR *tube* (Biologix, China) kemudian dihomogenkan dan disentrifus beberapa detik lalu *tube* dimasukkan ke dalam SelectCycler II Thermal Cycler (Select BioProducts, Taiwan). Amplifikasi gen target dilakukan dengan program PCR, yang terdiri dari predenaturasi 94°C 90 detik, denaturasi 94°C 30 detik, *annealing* sesuai tabel 1 selama 30 detik, ekstensi 72°C 60 detik untuk gen *coa* atau 120 detik untuk gen 23S, dan post ekstensi 72°C 5 menit. Siklus PCR dilakukan sebanyak 35 kali.

Produk PCR dielektroforesis dalam 1,5% gel agarose (GeneDirex, USA) yang dilarutkan menggunakan UltraPure Tris-borate-EDTA (TBE) buffer (Invitrogen, USA) dan ditambahkan FluoroVue DNA *staining* (SMOBIO, Taiwan). Gel berisi produk PCR dan 100 bp DNA *ladder* (AccuBand, SMOBIO, Taiwan) kemudian dielektroforesis selama 20 menit (tegangan 135 volt) menggunakan *submarine electrophoresis system* (Mupid-exU, Jepang). Keberadaan produk PCR divisualisasi di atas LED *Transilluminator* (BIO-HELIX, Taiwan). Pita DNA yang muncul kemudian dibandingkan dengan DNA *ladder* untuk menentukan ukuran produk PCR.

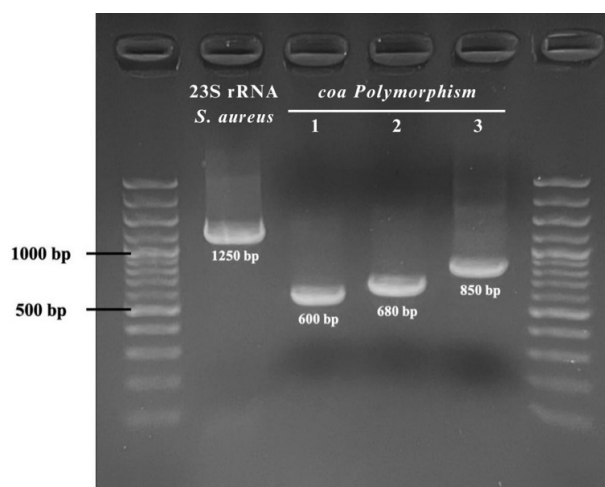
### Analisis statistik

Data penelitian dianalisis menggunakan *R software* versi 4.3.1 (*Comprehensive R Archive Network*, Vienna, Austria). Uji normalitas data dilakukan dengan uji *Shapiro-Wilk normality test* dan Q-Q plot. Uji *pearson correlation coefficient* (*r*) atau *spearman's rho* (*r<sub>s</sub>*) digunakan untuk mengetahui hubungan antara hasil *coa polymorphism* dengan *coa typing*.

Hasil analisis statistik diinterpretasikan dengan nilai signifikan ( $p < 0.05$ ), sedangkan kekuatan hubungan antara *coa polymorphism* (*X*) dan *coa typing* (*Y*) diinterpretasikan dengan koefisien korelasi (*rho*). Frekuensi data antara hasil *coa polymorphism* dengan *coa typing* dilakukan dengan *heatmap analysis*.

### Hasil dan Pembahasan

Tujuh belas isolat yang ditumbuhkan dari stok gliserol dalam penelitian ini masih terkonfirmasi spesies *S. aureus* (Gambar 1), ditunjukkan dengan pita produk PCR berukuran 1250 bp sesuai referensi untuk target gen 23S rRNA (Aziz *et al.*, 2020). Selanjutnya, hasil PCR menggunakan primer dari Hookey *et al.* (1998) memperlihatkan 3 ukuran polimorfisme pada 17 isolat *S. aureus* yang diuji, mayoritas isolat (11/17) menunjukkan ukuran 600 bp, sedangkan 5 isolat berukuran 680 bp, dan hanya 1 yang berukuran 850 bp (Gambar 1 dan Tabel 2).



Gambar 1 Visualisasi perwakilan produk PCR untuk spesies spesifik 23S rRNA *S. aureus* dan *coa polymorphism*. Perwakilan isolat yang digunakan pada gel agarose yaitu DMG (gen 23S rRNA dan *coa* 600 bp, KRG (*coa* 680 bp) dan PGT (*coa* 850 bp).

Hal berbeda ditunjukkan pada penggunaan *coa typing* dari Sakai *et al.* (2008), diketahui terdapat 7 pola *typing* dari sampel yang diuji, yaitu tipe V (sebanyak 5 isolat), VII (4), I (1), II (1), VI (1), VIII (1) dan tidak dapat diidentifikasi (ND) sebanyak 4 isolat. Penentuan tipe dilakukan dengan melihat ukuran produk PCR sesuai referensi dari Sakai *et al.* (2008), seperti pada gambar 2 diketahui tipe 1 berukuran 644



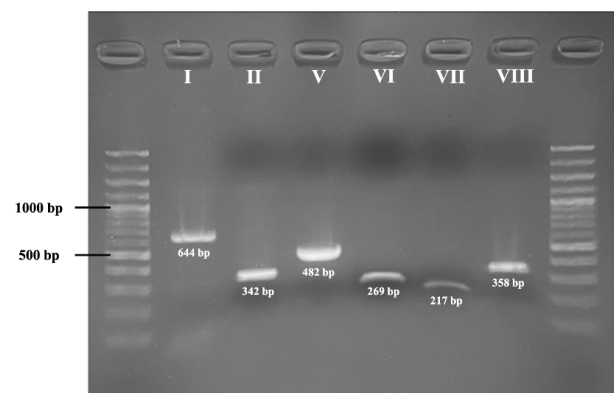
**Tabel 2.** Hasil determinasi genotipik penyandi koagulase pada isolat *S. aureus*

No	Isolat	Asal	23S rRNA <i>S. aureus</i> (Straub <i>et al.</i> , 1999)	<i>coa polymorphism</i> * (Hookey <i>et al.</i> , 1998)	<i>coa typing</i> (Sakai <i>et al.</i> , 2008)
1	S0	Susu Pasteurisasi	+	2	VI
2	S21	Susu Pasteurisasi	+	1	ND
3	S25	Susu Pasteurisasi	+	1	VII
4	S40	Susu Pasteurisasi	+	1	VII
5	S75	Susu Pasteurisasi	+	1	ND
6	S84	Susu Pasteurisasi	+	2	ND
7	S86	Susu Pasteurisasi	+	1	VII
8	S87	Susu Pasteurisasi	+	2	ND
9	S90	Susu Pasteurisasi	+	1	VII
10	C	Susu Kambing Mastitis	+	1	V
11	D	Susu Kambing Mastitis	+	1	V
12	F	Susu Kambing Mastitis	+	1	V
13	J	Susu Kambing Mastitis	+	2	V
14	DMG	Daging Ayam	+	1	VIII

bp, II (342 bp), V (482 bp), VI (269 bp), VII (217 bp), dan VIII (358 bp). Sedangkan 4 isolat asal susu pasteurisasi dengan kode S21, S75, S84 dan S87 menunjukkan tidak ada produk PCR sama sekali (gambar tidak ditunjukkan), diidentifikasi sebagai ND (*Not Determined*).

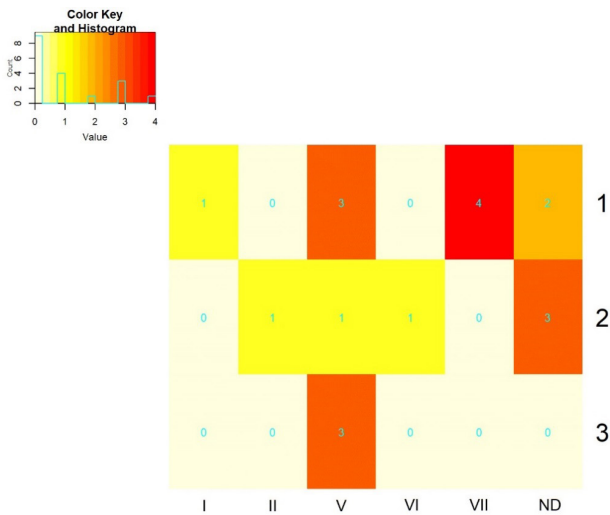
Uji statistik dilakukan untuk mengidentifikasi hubungan antara metode yang dikembangkan oleh Hookey *et al.* (1998) dan Sakai *et al.* (2008). Uji Normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan nilai statistik uji W sebesar 0.86 dan nilai *P-value* sebesar 0.02. Hasil dari Q-Q plot juga menunjukkan bahwa data tidak mengikuti distribusi normal sehingga analisis selanjutnya dilakukan dengan menggunakan metode uji Spearman. Hasil uji Spearman menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan korelasi yang signifikan antara kedua metode yang dibandingkan (*P-value* = 0.14). Nilai koefisien korelasi ( $\rho$ ) pada penelitian ini yang diperoleh adalah -0.37, mengindikasikan korelasi negatif yang lemah antara keduanya. Selain itu, *heatmap analysis* juga dilakukan untuk melihat frekuensi data antara *coa polymorphism* dan *coa typing*. Analisis data frekuensi kemunculan nilai dari kedua metode memberikan pemahaman awal tentang pola genetik pada gen *coa*. Ada variasi dalam kemunculan nilai dari kedua metode antara sampel yang berbeda (Gambar 3). Secara keseluruhan, hasil analisis data menunjukkan bahwa metode *coa polymorphism*

tidak memiliki hubungan korelasi yang signifikan dengan metode *coa typing*. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa pola *coa polymorphism* tidak merujuk pada hasil dari *coa typing* ataupun sebaliknya.



Gambar 2. Visualisasi perwakilan produk PCR *coa typing*. Perwakilan isolat yang digunakan pada gel agarose yaitu TLK (*coa typing* I), KRG (II), C (V), S0 (VI), S25 (VII), dan DMG (VIII).

Bakterial *typing* telah digunakan selama beberapa dekade untuk mempelajari bakteri pada tingkat spesies dan sub-spesies (Chadi *et al.*, 2022). *Typing* merupakan metode yang sangat penting dalam lingkup epidemiologi untuk pengawasan patogen, investigasi wabah dan studi evolusi (Byrd *et al.*, 2017; Bruce *et al.*, 2022). Penelitian ini memperlihatkan *S. aureus* asal sumber isolasi yang sama, merupakan *strain* yang berbeda. Metode *coa polymorphism* dan *coa typing* menunjukkan *S. aureus* yang diisolasi



Gambar 3. Heatmap analysis untuk uji *coa polymorphism* (kode: 1-3) dan *coa typing* (kode:I-ND)

dari susu pasteurisasi (Fitriana, 2022), susu mastitis kambing peranakan etawa (Maulina, 2022) dan daging ayam segar (Putri, 2023; Setyorini, 2023) yang telah diteliti sebelumnya, berasal dari *strain* berbeda-beda.

Level diskriminasi *coa polymorphism* lebih rendah dibandingkan dengan *coa typing*, dari 17 isolat yang diuji hanya menunjukkan 3 ukuran *polymorphism*, sedangkan pada *coa typing* diketahui terdapat 7 pola *typing*. Sedikitnya *coa polymorphism* telah dilaporkan pada beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh Effendi *et al.* (2019) memperlihatkan dari 20 isolat *S. aureus* asal sapi perah di Jawa Timur yang diteliti, terdapat 6 *coa polymorphism* dengan ukuran 440 bp, 510 bp, 547 bp, 680 bp, 740 bp, dan 820 bp. Dilain hal, Momtaz *et al.* (2011) memperlihatkan dari 42 isolat asal 2 provinsi di Iran, hanya ada 2 produk PCR *coa polymorphism* berukuran 970 bp (31 isolat) dan 730 bp (11 isolat).

Empat isolat pada penelitian ini tidak dapat ditentukan (ND, *Not Determined*) menggunakan primer *coa typing*, diketahui tidak ada produk PCR yang terlihat pada visualisasi DNA menggunakan LED *transilluminator*. Keberhasilan PCR sangat dipengaruhi oleh kesesuaian primer dengan DNA *template* (Green dan Sambrook, 2019). Ketidaksihesuaian tersebut menyebabkan kegagalan amplifikasi DNA target yang ditunjukkan dengan tidak adanya produk PCR, ekstra *band*, atau *smear* (Fitriana *et al.*, 2022). Sakai *et al.* (2008)

mendesain primer *coa typing* dari isolat-isolat *S. aureus* asal Jepang. Hal ini mengindikasikan adanya variasi pada sekuens gen *coa* dari isolat Indonesia dibandingkan Jepang. Tidak adanya produk PCR pada *coa typing* telah dilaporkan sebelumnya oleh Sato'o *et al.* (2014), dari 371 isolat asal kasus keracunan makanan dan *nasal swab* manusia yang diuji, lebih dari 15% di antaranya tidak dapat ditentukan. Hal tersebut mengindikasikan potensi pengembangan tipe baru *coa typing* diluar tipe 1-VIII, untuk isolat-isolat asal Indonesia perlu dilakukan, untuk kepentingan studi epidemiologi *S.aureus* yang lebih komprehensif.

## Kesimpulan

Level diskriminasi *coa typing* lebih variatif dibandingkan dengan *coa polymorphism* pada 17 isolat yang diuji. Metode *coa typing* menunjukkan 7 tipe berbeda, sedangkan *coa polymorphism* hanya 3. Empat dari 17 isolat tidak dapat ditentukan *coa typing*. Ketidakhadiran gen *coa typing* tersebut memberikan potensi pengembangan tipe baru *coa typing* isolat-isolat asal Indonesia, untuk kepentingan studi epidemiologi *S. aureus*.

## Daftar Pustaka

- Ariyanti, D., Salasia, S. I. O., & Tato, S. (2011). Characterization of Haemolysin of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food of Animal Origin. *Indonesian Journal of Biotech.* 16(1): 32-37.
- Aziz, F., Lestari, F. B., Nuraida, S., Purwati E., & Salasia, S. I. O. (2020). Deteksi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus* sp. Secara Langsung dari Susu Segar Kambing Peranakan Etawa dengan Teknik PCR. *Jurnal Sain Veteriner.* 38(2): 168–174.
- Bruce, S.A., Smith, J. T., Mydosh, J. L., Ball, J., Needle, D. B., Gibson, R., & Andam, C. P., (2022). Shared Antibiotic Resistance and Virulence Genes in *Staphylococcus aureus* from Diverse Animal Hosts. *Scientific Reports*, 12(1): 4413.
- Byrd, A. L., Deming, C., Cassidy, S. K., Harrison, O. J., Ng, W. I., Conlan, S., NISC Comparative Sequencing

- Program, Belkaid, Y., Segre, J. A., & Kong, H. H. (2017). Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis Strain Diversity Underlying Pediatric Atopic Dermatitis. *Science translational medicine*. 9(397): 4651.
- Chadi, Z. D., Dib, L., Zeroual, F., & Benakhla, A. (2022). Usefulness of molecular typing methods for epidemiological and evolutionary studies of Staphylococcus aureus isolated from bovine intramammary infections. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 29(8): 103338.
- Cheung, G. Y., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and Virulence of Staphylococcus aureus. *Virulence*. 12(1):547-569.
- Cho, Y. S., Lee, M. K., & Hwang, S. H. (2019). Toxin gene profiles, genetic diversity, antimicrobial resistance, and coagulase type of Staphylococcus aureus from cream-filled bakery products. *Food Science & Nutrition*, 7(5), 1727-1734.
- Denayer, S., Delbrassinne, L., Nia, Y., & Botteldoorn, N. (2017). Food-borne Outbreak Investigation and Molecular Typing: High Diversity of Staphylococcus aureus Strains and Importance of Toxin Detection. *Toxins*. 9(12): 407.
- Effendi, M. H., Hisyam, M. A. M., Hastutiek, P., & Tyasningsih, W. (2019). Detection of Coagulase Gene in Staphylococcus aureus from Several Dairy farms in East Java, Indonesia, by Polymerase Chain Reaction. *Veterinary World*. 12(1): 68.
- Fitriana, F. (2022). Prevalensi Staphylococcus aureus Asal Susu Sapi Pasteurisasi yang Diperjualbelikan di Empat Kabupaten/ Kota Daerah Istimewa Yogyakarta. *Proyek Akhir*. Program Studi Teknologi Veteriner Sekolah Vokasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Fitriana, F., Resita, R., Disastra, Y., Alfatik, G.H., Artdita, C.A., Haryanto, A. & Aziz, F. (2022). Komparasi Lima Jenis Primer Polymerase Chain Reaction Untuk Mengidentifikasi Kelamin Burung Famili Columbidae Yang Akurat. *Jurnal Sain Veteriner*. 40(2): 205-220.
- Green, M.R. & Sambrook, J. (2019). Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2019(6): 436-456.
- Hashemizadeh, Z., Dehkordi, R. S., Bazargani, A., Javadi, K., Hosseini-Nave, H., & Hadadi, M. (2022). Evaluation of aminoglycoside modifying enzymes, SCCmec, coagulase gene and PCR-RFLP coagulase gene typing of Staphylococcus aureus isolates from hospitals in Shiraz, southwest of Iran. *Heliyon*, 8(8).
- Hema, P., Appalaraju, B., & Someshwaran, R. (2022). Molecular Typing of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Using coa Gene Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism: A Cross-sectional Study. *Journal of Clinical & Diagnostic Research*. 16(11): 1-7.
- Hookey, J. V., Richardson, J. F., & Cookson, B. D. (1998). Molecular typing of Staphylococcus aureus Based on PCR Restriction Fragment Length Polymorphism and DNA Sequence Analysis of the Coagulase Gene. *Journal of clinical microbiology*. 36(4): 1083-1089.
- Kitagawa, H., Ohge, H., Hisatsune, J., Kajihara, T., Katayama, K., Takahashi, S. & Sugai, M. (2019). Prosthetic valve endocarditis caused by ST8 SCCmecIV1 type community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Internal Medicine*, 58(5), 743-747.
- Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M., (2003). Staphylococcus aureus and Food Poisoning. *Genetics and molecular research: GMR*. 2(1):63-76.
- Locatelli, C., Gattolin, S., Monistero, V., Castiglioni, B., Moroni, P., Addis, M. F., & Cremonesi, P. (2023). Staphylococcus aureus coa Gene Sequence Analysis Can Prevent Misidentification of Coagulase-Negative Strains and Contribute to Their Control in Dairy Cow Herds. *Frontiers in Microbiology*. 14:1120305.

- Martínez-Seijas, C., Mascarós, P., Lizana, V., Martí-Marco, A., Arnau-Bonachera, A., Chillida-Martínez, E. & Corpa, J. M. (2023). Genomic Characterization of *Staphylococcus aureus* in Wildlife. *Animals*, 13(6), 1064.
- Maulina, T. R. (2022). Metode Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Mastitis di Kecamatan Samigaluh, Kulonprogo, Yogyakarta. *Proyek Akhir*. Program Studi Teknologi Veteriner Sekolah Vokasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Miyake, R., Iwamoto, K., Sakai, N., Matsunae, K., Aziz, F., Sugai, M., Takahagi, S., Tanaka, A. & Hide, M. (2022). Uptake of *Staphylococcus aureus* by Keratinocytes is Reduced by Interferon–Fibronectin Pathway and Filaggrin Expression. *The Journal of dermatology*. 49(11): 1148-1157.
- Miyazawa, R., Shimoda, S., Matsuda, K., Tobe, R., Ando, T., & Yoneyama, H. (2022). Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates from Bovine Mastitis and Bulk Tank Milk: First Isolation of Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in Japan. *Microorganisms*. 10(11): 2117.
- Momtaz, H., Tajbakhsh, E., Rahimi, E., & Momeni, M. (2011). Coagulase Gene Polymorphism of *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical and Sub-Clinical Bovine Mastitis in Isfahan and Chaharmahal va Bakhtiari Provinces of Iran. *Comparative clinical pathology*. 20: 519-522.
- Murugesan, A. C., Ramachandran, M., Varughese, H. S., & Kumaragurubaran, K. (2023). *Staphylococcus coagulans* Possesses Many Virulence Factors of *Staph. aureus* and *Staph. pseudintermedius*. *Journal of Applied Microbiology*. 134(1).
- Nadiya, S., Kolla, H. B., & Reddy, P. N., (2023). Optimization and Evaluation of a Multiplex PCR Assay for Detection of *Staphylococcus aureus* and Its Major Virulence Genes for Assessing Food Safety. *Brazilian Journal of Microbiology*. 54(1): 311-321.
- Neelam, Jain, V. K., Singh, M., Joshi, V. G., Chhabra, R., Singh, K. & Rana, Y. S. (2022). Virulence and Antimicrobial Resistance gene profiles of *Staphylococcus aureus* associated with clinical mastitis in cattle. *Plos one*. 17(5).
- Putri, S. A. (2023). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus* sp. dan *Staphylococcus aureus* dari Sampel Daging Ayam yang Dijual di Sepuluh Pasar Wilayah Kota Yogyakarta. *Proyek Akhir*. Program Studi Teknologi Veteriner Sekolah Vokasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Ren, Q., Liao, G., Wu, Z., Lv, J., & Chen, W. (2020). Prevalence and Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates from Subclinical Bovine Mastitis in Southern Xinjiang, China. *Journal of dairy science*. 103(4): 3368-3380.
- Sakai, F., Takemoto, A., Watanabe, S., Aoyama, K., Ohkubo, T., Yanahira, S., Igarashi, H., Kozaki, S., Hiramatsu, K. & Ito, T. (2008). Multiplex PCRs for Assignment of *Staphylocoagulase* Types and Subtypes of Type VI *Staphylocoagulase*. *Journal of microbiological methods*. 75(2): 312-317.
- Sato'o, Y., Omoe, K., Naito, I., Ono, H. K., Nakane, A., Sugai, M., Yamagishi, N., & Hu, D.L., (2014). Molecular Epidemiology and Identification of a *Staphylococcus aureus* Clone Causing Food Poisoning Outbreaks in Japan. *Journal of clinical microbiology*. 52(7): 2637-2640.
- Setyorini, D. R. (2023). Studi Pendahuluan Deteksi *Staphylococcus* sp. dan *Staphylococcus aureus* pada Daging Ayam Segar dari Pasar Tradisional. *Proyek Akhir*. Program Studi Teknologi Veteriner Sekolah Vokasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Suwito, W., Nugroho, W. S., Adji, R. S., Andriani, A., Kusumaningtyas, E., & Martini, T. (2022). Phenotypic Characteristic of *Staphylococcus aureus* from Subclinical Mastitis in Etawah-crossbreed Goats in



- Yogyakarta, Indonesia. *Veterinary World*. 15(11).
- Thomas, S., Liu, W., Arora, S., Ganesh, V., Ko, Y.P., & Hook, M. (2019). The Complex Fibrinogen Interactions of the *Staphylococcus aureus* Coagulases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 9:106.
- Zhang, J., Wang, J., Jin, J., Li, X., Zhang, H., Shi, X., & Zhao, C. (2022). Prevalence, Antibiotic Resistance, and Enterotoxin Genes of *Staphylococcus aureus* Isolated from Milk and Dairy Products Worldwide: A systematic review and Meta-Analysis. *Food Research International*. 162:111969.
- Zhang, Z., Chen, Y., Li, X., Wang, X. and Li, H., 2022. Detection of Antibiotic Resistance, Virulence Gene, and Drug Resistance Gene of *Staphylococcus aureus* Isolate from Bovine Mastitis. *Microbiology Spectrum*. 10(4):00471-22.