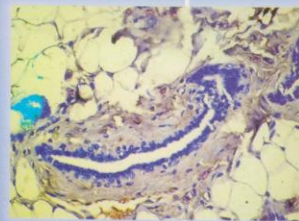
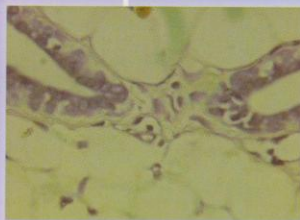


ISSN 0215-8930

MEDIA

Kedokteran Hewan

Veterinary Medicine Journal



MKH (Vet.Med.J.)	Vol. 24	No. 3	Hal. 139-201	Surabaya, Sept. 2008	ISSN 0215-8930
------------------	---------	-------	--------------	----------------------	----------------

Akreditasi Dirjen Dikti No. 108/Dikti/Kep/2007
Tanggal 23 Agustus 2007

Peta Resistensi Antibiotika *Staphylococcus aureus* dari Kasus Mastitis Sapi Perah di Beberapa Daerah Peternakan

The Map of Antibiotics Resistance of *Staphylococcus aureus* from Bovine Mastitic Cases on Several Dairy Herds

Mustofa Helmi Effendi

Departemen Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga
Email : mheffendi@yahoo.com

Abstract

The experiment was carried out to show the antibiotics resistance of *Staphylococcus aureus* from mastitis cases on four dairy herds. The first step of test was to prepare pure culture of *Staphylococcus aureus*. Milk samples were collected from mastitis cases at the afternoon milking time. Preparations of pure cultures were confirmed by MS agar, hemolytic activity, catalase and coagulase test. Antibiotic susceptibility test showed that there were two isolates of *Staphylococcus aureus* which resistance for antibiotic. The majority of isolates of *Staphylococcus aureus* from Surabaya dairy herd were resistance against erythromycin and isolates of *Staphylococcus aureus* from Nongkojajar dairy herd were resistance against penicillin and ampicillin.

Key words: antibiotics resistance, *Staphylococcus aureus*, mastitic cases, dairy herds

Pendahuluan

Penyakit radang ambing yang dikenal sebagai mastitis merupakan masalah utama dalam kesehatan di peternakan sapi perah karena sangat merugikan peternak sapi perah. Sebanyak 80-90% disebabkan oleh bakteri, sehingga kuantitas produksi susu turun, juga berpengaruh terhadap penurunan kualitas susu yang dihasilkan, yang secara langsung ataupun tidak langsung akan merugikan konsumen dan industri pengolah susu (Jones, 1998). Berdasarkan hal tersebut, harus dilakukan pengkajian yang mendalam tentang faktor yang terkait dengan terjadinya mastitis agar supaya dapat dilakukan pengendalian untuk mengurangi kerugian peternak, industri pengolahan susu dan khususnya masyarakat konsumen.

Kerugian ekonomi tersebut dapat dikurangi dengan melakukan pengendalian mastitis secara tepat dan efisien. Pengendalian mastitis yang sering dilakukan oleh para peternak di Jawa Timur adalah sebagai berikut: mencuci tangan sebelum pemerahan dengan larutan desinfektan; melakukan pemerahan dengan baik dan benar tanpa bahan pelicin sampai tuntas; melakukan pencelupan puting ke dalam larutan desinfektan setelah selesai pemerahan; sapi yang menderita mastitis diperah terakhir dan harus dikeluarkan dari kandang bila tidak sembuh dengan pengobatan; melakukan pencegahan dengan pembe-

rian antibiotika dalam masa kering kandang; melakukan pemeriksaan secara rutin terhadap kejadian mastitis; dan mengukur produksi susu sapi per ekor per hari secara teratur (Sudarwanto, 1999).

Penyebab mastitis yang paling sering adalah *Staphylococcus aureus* pada peternakan sapi perah. Ambing sapi perah yang terinfeksi merupakan sumber utama penyakit yang dapat menularkan *Staphylococcus aureus* ke sapi perah lainnya dalam peternakan (Roberson, 1999). Pencegahan terhadap penularan patogen dari sapi perah ke sapi perah lainnya dapat menurunkan angka kejadian mastitis. Mastitis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah sangat sulit untuk dikontrol oleh pengobatan (Jones, 1998), dan angka kejadian mastitis yang disebabkan *Staphylococcus aureus* merupakan angka kejadian tertinggi (Morin and Hurley, 2003). Keberhasilan pengobatannya hanya melalui penggalian data tentang peta resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap beberapa antibiotika. Peta resistensi tersebut diperlukan untuk meningkatkan efektivitas penggunaan antibiotika dalam pengendalian mastitis di peternakan sapi perah.

Metode Penelitian

Bahan penelitian berupa sampel susu yang diambil dari puting sapi perah yang menderita mastitis.

Metode untuk penentuan mastitis subklinis digunakan *California Mastitis Test* yang merupakan standar untuk deteksi mastitis subklinis (Jones, 1998). Bahan untuk menentukan isolat *Staphylococcus aureus* murni secara laboratoris adalah Pewarna Gram, *Manitol Salt Agar* (MSA), Agar Darah, Hidrogen Peroksida dan Plasma darah kelinci.

Prosedur Penelitian

Deteksi dan diagnosis mastitis

Berdasarkan visualisasi dan palpasi pada ambing. Dalam kasus mastitis klinis, ambing menjadi keras, kemerahan dan hangat. Palpasi pada ambing menyebabkan sapi kesakitan.

Deteksi mastitis subklinis berdasarkan pada *Somatic cells* dengan menggunakan metoda *California Mastitis Test* (CMT) Alat ini mendeteksi bentukan gel ketika DNA dalam *somatic cells* bereaksi dengan reagen. Reaksi terjadi pada *paddle* CMT dan dinilai secara subyektif (negatif, ringan, 1, 2, 3).

Koleksi sampel dan identifikasi

Sampel diperoleh dari susu sapi perah penderita mastitis dari peternakan sapi perah Surabaya, Batu, Nongkojajar dan Grati, Pasuruan seperti tertera pada Tabel 1. Sampel dikultur pada media MS agar dan dilanjutkan sub kultur pada agar darah untuk diidentifikasi, dan menunjukkan hasil: bentuk mikroskopis kokus bergerombol, katalase (+), koagulase (+) dan Gram (+).

Uji sensitivitas *in vitro*

Pengujian sensitivitas terhadap enam antibiotika dilakukan dengan menggunakan metode difusi dari Kirby Bauer. Tujuan dari uji sensitivitas antibiotika adalah untuk memprediksi secara *in vivo* sukses atau tidaknya suatu pengobatan. Pengujian dirancang untuk mengukur respon pertumbuhan dari sebuah isolat mikroorganisme yang terpapar antibiotika tertentu di bawah kondisi baku. Hasil dari uji sensitivitas antibiotika harus dikombinasikan dengan informasi klinis dan pengalaman ketika memberikan antibiotika yang cocok (Thornsberry, 1991). Metode *disk diffusion* (Kirby Bauer *disk assay*) merupakan sistem yang tepat untuk pengujian beberapa antibiotika dari suatu isolat bakteri (Thornsberry, 1991). Pertumbuhan

mikroorganisme dan difusi antibiotika secara serempak menghasilkan zona inhibisi yang bundar. Diameter zona inhibisi adalah fungsi dari suatu antibiotika dalam disk dan kepekaan dari mikroorganisme. Media yang digunakan untuk menguji adalah media Mueller Hilton Broth (Oxoid), Mueller Hilton Agar (Oxoid) dan 6 macam cakram antibiotika dari Oxoid yaitu Ampisilin 10 µg, Cephalexin 30 µg, Eritromisin 15µg, Ciploxin 5 µg, Tetrasiklin 30µg dan Penisilin 10 IU.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini didahului oleh penelitian yang bersifat survey observasional dengan tujuan untuk mengetahui prevalensi mastitis di peternakan sapi perah di Surabaya, Batu, Nongkojajar dan Grati, Pasuruan yang hasilnya terlihat pada Tabel 1. Isolat *Staphylococcus aureus* diisolasi dari sampel susu mastitis dengan maksud untuk diteliti tentang resistensi antibiotika yang berperan sebagai faktor virulensinya yang hasilnya terlihat pada Tabel 2.

Pada penelitian ini diharapkan dapat memperoleh gambaran peta resistensi antibiotika yang digunakan untuk lebih memahami cara pengobatan yang tepat pada kasus mastitis sapi perah dengan agen penyebab *Staphylococcus aureus*.

Penentuan Kasus Mastitis

Berdasarkan pada visualisasi dan palpasi untuk kasus mastitis klinis serta dengan alat deteksi CMT pada kasus mastitis subklinis, didapatkan data seperti pada Tabel 1.

Diskripsi dari Tabel 1 didapatkan data prevalensi mastitis dari masing-masing peternakan sapi perah yaitu: peternakan sapi perah Nongkojajar dengan angka prevalensi 82,7%, peternakan sapi perah Batu dengan angka prevalensi 83,1%, peternakan sapi perah Surabaya dengan angka prevalensi 86,4% dan peternakan sapi perah Grati dengan angka prevalensi 79,5%. Hal ini sesuai dengan data yang didapat dari Sudarwanto (1999) yang melaporkan bahwa prevalensi mastitis pada sapi perah di Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur berkisar 80-90%.

Tabel 1. Prevalensi Mastitis pada Sapi Perah di Empat Lokasi Peternakan Sapi Perah

Peternakan sapi perah	Sampel susu sapi	Mastitis klinis (%)	Mastitis subklinis (%)	Normal (%)	Total mastitis (%)
Surabaya	22	0	19 (86,4%)	3 (13,6%)	19 (86,4%)
Grati	117	0	93 (79,5%)	24 (20,5%)	93 (79,5%)
Batu	71	3 (4,2%)	56 (78,9%)	12 (16,9%)	59 (83,1%)
Nongkojajar	98	5 (5,1%)	76 (77,6%)	17 (17,3%)	81(82,7%)

Identifikasi Isolat *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan pada uji mikroskopis dan pewarnaan Gram positif, uji koagulase positif, uji katalase positif, kemampuan fermentasi MSA (Gambar 1.b), dan bentuk hemolisis β (Gambar 1.a) maka isolat *Staphylococcus aureus* yang berhasil diperoleh seperti Tabel 2.

Hasil isolasi *Staphylococcus aureus* ini didasarkan atas rujukan yang didiskripsikan oleh Mylotte (2003).

Tabel 2. Isolat *Staphylococcus aureus*

Lokasi Peternakan sapi perah	Sampel susu mastitis	<i>Staphylococcus aureus</i>
Surabaya	19	5 (26,3%)
Grati	93	12 (12,9%)
Batu	59	6 (10,17%)
Nongkojajar	81	8 (9,9%)

Identifikasi *Staphylococcus aureus* bertujuan untuk memperoleh isolat murni *Staphylococcus aureus* dari kasus mastitis sapi perah di Jawa Timur. Dalam identifikasi ini digunakan metode standar yaitu berupa uji mikroskopis, pengecatan Gram, uji fermentasi pada *Manitol Salt Agar*, uji katalase, uji hemolisis dan uji koagulase yang berguna untuk membedakan dengan berbagai spesies *Staphylococcus* yang menginfeksi kelenjar susu sapi perah.

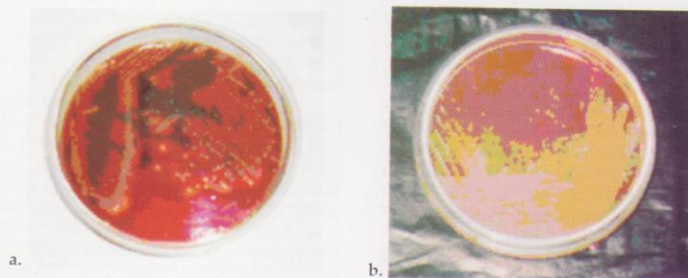
Pemeriksaan identifikasi sampel susu mastitis sebanyak 252 sampel. Infeksi *Staphylococcus aureus* yang terjadi sering dengan manifestasi subklinis, maka upaya dari penelitian ini adalah untuk mengamati dan menilai keberadaan *Staphylococcus aureus* melalui pendekatan metode standar laboratorium. Organisme yang diisolasi dari sampel susu yang ditumbuhkan ke MSA yang mengandung 7,5% *sodium chloride* akan membatasi pertumbuhan orga-

nisme lainnya, tetapi genus *Staphylococcus* dapat tumbuh. Setelah dilakukan identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan metode standar laboratorium diperoleh isolat *Staphylococcus aureus* berjumlah 31 isolat. Sisanya positif spesies *Staphylococcus* yang lain dalam jumlah yang menyebar antara lain *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus* dan sebagian merupakan genus dari *Streptococcus* spp. yang ditandai dengan uji katalase negatif dan berbentuk mikroskopis rantai kokus.

Uji sensitifitas antibiotika pada isolat *Staphylococcus aureus*

Uji sensitivitas antibiotika mempunyai fungsi dalam pengobatan manusia maupun pada hewan. Utamanya, hal ini dapat digunakan untuk pilihan pengobatan antimikrobia dan lainnya untuk memonitor resistensi antimikrobia. Metode Kirby-Bauer yang menggunakan *agar disk diffusion* menghasilkan kategori yang bersifat kualitatif dengan penilaian sensitif, intermediate dan resisten. Perkembangan dari resistensi antibiotika dalam bakteri adalah disebabkan dua hal penting yaitu penggunaan antibiotika yang berlebihan dan adanya gen resisten. Ada hubungan yang sangat erat antara perkembangan resistensi antibiotika dengan jumlah penggunaan antibiotika (Lopez-Lozano *et al.*, 2000).

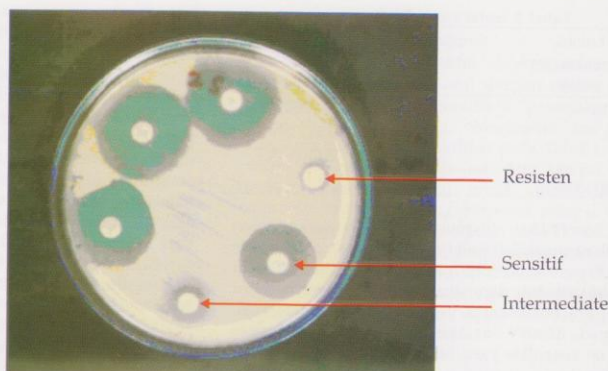
Resistensi antibiotika melalui empat mekanisme utama: pemindahan tempat target dari antibiotika (seperti perubahan dalam *penicillin binding proteins*), pemecahan obat dan inaktivasi enzimatis dari antibiotika (*penicillinases*), perubahan permeabilitas dinding sel yang mencegah masuknya antibiotika, dan peningkatan aktifitas tekanan dalam sel yang mencegah akumulasi antibiotika di dalam sel (Wise, 1999). Mekanisme kenaikan tekanan dalam sel juga diidentifikasi yang dapat mencegah akumulasi antibiotika dalam sel bakteri (Lee *et al.*, 1997; Pechere, 2001).



Gambar 1. a. Hasil uji hemolisis β b. Hasil uji fermentasi pada MSA

Tabel 3. Komparasi dari Rata-rata Diameter (mm) Zona Disk Diffusion antara *S. aureus* dari Peternakan Sapi Perah di Surabaya, Grati, Batu dan Nongkojajar

Antibiotika	Surabaya	Grati	Batu	Nongkojajar
Ampisilin	25.72	31.07	33.73	18.71
Cephalexin	16.21	17.31	18.21	14.44
Eritromisin	6.79	20.95	22.37	20.73
Ciproxin	25.03	27.85	26.62	26.47
Tetrasiklin	26.24	23.50	27.18	26.37
Penisilin	25.56	31.00	32.46	18.07



Gambar 2. Zona resisten, zona intermediate dan zona sensitif pada uji Sensitivitas antibiotika metode disk diffusion.

Dari Tabel 3. didapatkan data bahwa berdasarkan pada rata-rata diameter zona hambat (mm) zona yang terbentuk dari isolat Surabaya ($25,72 \pm 6,26$), isolat Grati ($31,07 \pm 3,12$), isolat Batu ($33,73 \pm 1,85$) dan isolat Nongkojajar ($18,71 \pm 7,76$). Hasil analisis statistik dengan uji F terhadap uji sensitivitas ampisilin pada *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang sangat signifikan antara ke empat peternakan sapi perah, dan beberapa isolat *Staphylococcus aureus* dari Nongkojajar memperlihatkan resistensi terhadap ampisilin.

Hasil analisis statistik dengan uji F terhadap uji sensitivitas penisilin pada *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang sangat signifikan antara ke empat peternakan sapi perah dan beberapa isolat *Staphylococcus aureus* dari Nongkojajar memperlihatkan resistensi terhadap penisilin. Hal tersebut berdasarkan pada rata-rata diameter zona hambat (mm) zona yang terbentuk dari isolat Surabaya ($25,56 \pm 6,62$), isolat Grati ($31,00 \pm 2,77$), isolat Batu ($32,46 \pm 1,50$) dan isolat Nongkojajar ($18,07 \pm 6,60$).

Meskipun secara analisis statistik dengan uji F tidak berbeda nyata pada rata-rata zona hambat yang terbentuk dari isolat Surabaya ($16,21 \pm 5,23$), isolat Grati ($17,31 \pm 2,87$), isolat Batu ($18,21 \pm 4,33$), dan

isolat Nongkojajar ($14,44 \pm 3,77$), tetapi berdasarkan perbandingan persentase maka isolat Surabaya 40%, isolat Grati 15%, isolat Batu 33% dan isolat Nongkojajar 62% yang resisten terhadap cephalexin.

Penisilin, ampisilin dan cephalexin termasuk golongan antibiotik β -laktam. Antibiotika β -laktam adalah merupakan antibiotika yang sering digunakan dalam pengobatan mastitis pada sapi perah. Antibiotika ini mempunyai aktifitas dalam *Staphylococcus aureus* melalui interaksi tiga molekul yang berat dan satu molekul yang ringan pada penicillin binding proteins. Fungsi yang spesifik dari penicillin binding proteins belum begitu jelas, tetapi mempunyai efek pada sintesis dinding sel peptidoglycan dan pertumbuhan sel (Hakenbeck and Coyette, 1998).

Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotika β -laktam merupakan masalah yang cukup banyak ditemukan di beberapa negara (Vavra et al., 2003), strain seperti ini akan menjadi lebih tinggi prevalensinya jika pengobatan dengan antibiotika β -laktam tidak didasarkan pada dosis dan penggunaan yang tepat, hal ini didukung oleh Siswanto dan Effendi (2007) yang memaparkan bahwa kebanyakan bakteri *Staphylococcus aureus* isolat Surabaya resisten terhadap cephalexin yang merupakan kelompok

antibiotika β -laktam tetapi untuk bakteri *Coagulase Negative Staphylococci* (CNS) isolat Surabaya sensitif terhadap *cephalexin*.

Pengetahuan tentang salah satu mekanisme resistensi antibiotika β -laktam dengan menghambat biosintesis dinding sel (Vavra *et al.*, 2003). Antibiotika β -laktam mengikat dan menghambat *penicillin binding proteins* (PBPs) yang merupakan enzim untuk sintesis *peptidoglycan*, pertumbuhan sel dan morfogenesis (Pinho *et al.*, 2001). Pemahaman tentang faktor yang mempengaruhi ekspresi PBPs dapat digunakan untuk pencarian alternatif pengobatan yang tepat.

Penisilin dan ampicilin mempunyai sifat antara lain sebagai antibiotika β -laktam yang mampu menanggulangi enzim β -laktamase dan mengikat PBP 2a pada konsentrasi yang sangat rendah (Katayama *et al.*, 2003). Resistensi terhadap penisilin, ampicilin dan *cephalexin* untuk isolat *Staphylococcus aureus* dari peternakan Nongkojajar mungkin disebabkan adanya gen PBP 4. Gen PBP 4 merupakan gugusan PBP yang mempunyai BM rendah dan terkait dengan resistensi antibiotika β -laktam (Katayama *et al.*, 2003), dan mungkin PBP 4 menyebabkan kemampuan untuk mentoleransi antibiotika β -laktam. Sifat PBP 4 menyebabkan *deacylates penicillin* sekitar 10-20 lebih cepat dibandingkan dengan PBPs yang mempunyai BM tinggi (Goffin and Ghuyssen, 1998), hal ini dimungkinkan karena PBP 4 mengikat penisilin dan ampicilin pada konsentrasi yang lebih tinggi (Goffin and Ghuyssen, 1998). Beberapa molekul PBP 4 yang tidak terikat pada tingkat konsentrasi yang sudah mengikat molekul PBP 2a akan mentoleransi antibiotika β -laktam yang diberikan.

Meskipun hasil analisis statistik terhadap uji sensitivitas eritromisin pada *Staphylococcus aureus* dengan uji Kruskal-Wallis tidak menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara ke empat peternakan sapi perah, tetapi isolat *Staphylococcus aureus* dari Surabaya memperlihatkan resistensi terhadap eritromisin dengan zona hambat 0 mm dengan presentase 60% isolat Surabaya. Merujuk data yang tersedia berdasarkan pada rata-rata diameter zona hambat (mm) zona yang terbentuk adalah dari isolat Surabaya ($6,79 \pm 10,31$), isolat Grati ($20,95 \pm 1,47$), isolat Batu ($20,36 \pm 2,93$) dan isolat Nongkojajar ($18,88 \pm 6,82$).

Hasil penelitian ini menggambarkan adanya hubungan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahardjo *et al.*, (1999) yang menyatakan bahwa bakteri yang diisolasi dari daging sapi maupun daging ayam yang beredar di Surabaya 92% resisten terhadap eritromisin, dan juga didukung oleh Effendi (2006) yang menerangkan bahwa isolat dari Surabaya yang berupa bakteri *Staphylococcus aureus* resisten terhadap eritromisin. Hal ini juga berarti ada

kesesuaian dengan yang diteliti oleh Khan *et al.*, (2000) yang menyatakan dapat terjadinya perpindahan resistensi terhadap eritromisin dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal ayam ke bakteri *Staphylococcus aureus* yang berada pada manusia. Hal yang sama juga tampak pada laporan Siswanto dan Effendi (2007) yang meneliti *Coagulase Negative Staphylococci* dari kasus mastitis di Surabaya juga resisten terhadap eritromisin.

Eritromisin adalah sebuah antibiotika makrolida yang juga sering digunakan pada pengobatan *intramamary* dan tersedia dalam pengobatan pada masa laktasi ataupun masa kering. Eritromisin mengikat 50S ribosomal pada bakteri Gram positif (Nicola *et al.*, 1998). *Staphylococcus aureus* membentuk formasi sub unit ribosom dan salah satunya adalah 50S sub unit ribosom. Eritromisin mencegah formasi terbentuknya 50S ribosom. Penghambatan translasi terkait dengan aktivitas *peptidyltransferase* dari 50S sub unit (Nicola *et al.*, 1998), penghambatan eritromisin terjadi dalam tahap translasi antara proses inisiasi dan elongasi.

Beberapa strain *Staphylococcus aureus* mempunyai *eritromisin-resistant methylase genes* (*ermA*, *ermB* dan *ermC*) (Pechere, 2001) yang menyandi pemindahan dalam ribosomal RNA dengan fungsi mencegah pengikatan makrolida dan menghasilkan resistensi tingkat tinggi. Perpindahan secara kromosomal gen *ermA* terkait dengan transposon Tn 554 (Philipps and Novick, 1979) yang mengindikasikan perpindahan resistensi obat yang dimediasi oleh *transposon*.

Pada penelitian Khan *et al.* (2000) menggambarkan bahwa penggunaan antibiotika pada manusia bisa merupakan ancaman bagi hewan dengan meningkatkan resistensi beberapa bakteri dan resistensi bisa dipindahkan pada tingkatan interspesies dan antar genus. Penyebaran resistensi agen antimikrobal pada *Staphylococcus aureus* disebabkan oleh penyebaran plasmid dan *transposon* (Lyon and Skurray, 1987).

Meskipun perpindahan resistensi antara strain *Staphylococcus aureus* dalam percobaan laboratorium terjadi via *transformation*, *transduction* dan *conjugation* (Lacey, 1975), hanya *conjugation* tampak secara signifikan secara *in vivo* (McGowan, 1991). Studi dengan strain *staphylococcal* yang diisolasi dari manusia mengindikasikan bahwa *Staphylococcus epidermidis* adalah sumber penyakit gen resistensi antibiotika yang dapat dipindahkan ke *Staphylococcus aureus* dalam kondisi *in vivo* maupun *in vitro* (Forbes and Schaberg, 1983).

Sementara hasil analisis statistik uji sensitivitas *ciproxin* dan tetrasiklin pada *Staphylococcus aureus* menunjukan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara ke empat peternakan sapi perah, hal ini berarti ke empat peternakan sapi perah tersebut isolat *Staphylococcus aureus* yang diisolasinya sensitif terhadap ke dua antibiotika tersebut.

Kesimpulan

Hasil penelitian secara keseluruhan dari penelitian ini dapat disimpulkan sebagai hal berikut: Uji sensitivitas antibiotika memperlihatkan isolat *Staphylococcus aureus* dari Nongkojajar resisten terhadap penisilin dan ampicilin, sedangkan kebanyakan isolat *Staphylococcus aureus* dari Surabaya resisten terhadap eritromisin.

Daftar Pustaka

- Effendi MH. 2006. Variabilitas strain *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari susu sapi perah penderita mastitis di Jawa Timur dengan pendekatan gen penyandi protein permukaan bakteri dan uji sensitivitas antibiotika. Disertasi, PPS Universitas Airlangga, Surabaya.
- Forbes BA and Schaberg DR. 1983. Transfer of resistance plasmids from *Staphylococcus epidermidis* to *Staphylococcus aureus*: evidence of conjugative exchange of resistance. J. Bacteriol. 153: 627-634.
- Goffin C and Ghuysen JM. 1998. Multimodular penicillin-binding proteins. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63: 1079-1093.
- Hakenbeck R and Coyette J. 1998. Resistant penicillin-binding proteins. Cell. Mol. Life. 54: 332.
- Jones GM. 1998. *Staphylococcus aureus* Mastitis: Cause, Detection and Control. Virginia Cooperative Extension, USA.
- Katayama Y, Zhang HZ and Chambers HF. 2003. Effect of disruption of *Staphylococcus aureus* PBP4 gene on resistance to β -Lactam antibiotics. Microb. Drug Resist. 9: 329-336.
- Khan SA, Nawez MS, Khan AA and Cerniglia. 2000. Transfer of erythromycin resistance from poultry to human clinical strain of *S. aureus*. J. Clin. Microbiol. 38: 1832.
- Lacey RW. 1975. Antibiotic resistance plasmids of *staphylococcus aureus* and their clinical importance. Bacteriol. Rev. 39: 1-32.
- Lopez-Lozano JM, Monnet DL and Sacz M. 2000. Modelling and forecasting antimicrobial resistance and its dynamic relationship to antimicrobial use: a time series analysis. Intl. J. Antimicrob. Agents. 14: 21.
- Lyon BR, and RA Skurray. 1987. Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus*: Genetic Basis. Microbiol. Rev. 51: 88-134.
- McGowan JE Jr. 1991. Abrupt changes in antibiotic resistance. J. Hosp. Infect. 18: 202-210.
- Morin DE, and WL Hurley. 2003. Mastitis Lesson B. University of Illinois, USA.
- Mylotte JM. 2003. Genus *Staphylococcus*. Buffalo School of Medicine and Biomedical Sciences. www.smbb.buffalo.edu/id
- Nicola FG, Linda K, James McD, Biddle W and Tenover FC. 1998. Characterization of erythromycin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus* recovered in the United States from 1958 through 1969. Antimicrob Agents Chemother. 42: 3024-3027.
- Pechere JC. 2001. Macrolide resistance mechanism in gram positive cocci. Intl. J. Antimicrob. Agents. 18: S25.
- Philipps S and Novick RP. 1979. Tn554 a site specific repressor-controlled transposon in *Staphylococcus aureus*. Nature 278: 476-478
- Pinho MG, Lencastre H and Tomasz A. 2001. An acquired and a native penicillin binding protein cooperate in building the cell wall of drug-resistant *Staphylococci*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 21: 21.
- Rahardjo D, Kataoka N, Wasito EB and Alimsardjono L. 1999. Enteropathogenic bacteria from raw meat and its susceptibility against antimicrobial agents. Proc. Seminar on Infect. Dis. In the Tropics, Surabaya.
- Roberson JR. 1999. The Epidemiology of *Staphylococcus aureus* on dairy farms. Proc. Natl. Mastitis Council, USA.
- Siswanto HP dan Effendi MH. 2007. Uji sensitivitas *Coagulase Negative Staphylococci (CNS)* in vitro dari kasus mastitis terhadap beberapa antibiotika. Media Kedokteran Hewan, 23: 41-46.
- Sudarwanto M. 1999. Usaha peningkatan produksi susu melalui program pengendalian mastitis subklinis. Prosiding Seminar Nasional Mastitis, Bogor.
- Thornberry C. 1991. Antimicrobial susceptibility testing: general considerations. In: Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, 1059-1064.
- Vavra SB, Yin S, Challapalli M and Daum RD. 2003. Transcriptional induction of the penicillin-binding protein 2 gene in *Staphylococcus aureus* by cell wall active antibiotics oxacillin and vancomycin. J. Antimicrob. Agents and Chemother. 47: 1028-1036.
- Wise R. 1999. A review of the mechanisms of action and resistance of antimicrobial agents. Can. Resp. J. 6 Suppl: 20A.